

Avaliação da eficácia da cortiça e de nanopartículas de dióxido de titânio na remoção da toxicidade de efluentes têxteis

Ana Margarida Ferreira e Castro

Mestrado em Biologia e Gestão da Qualidade da Água

Departamento de Biologia

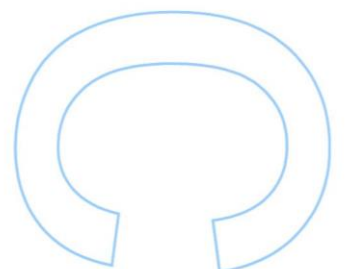
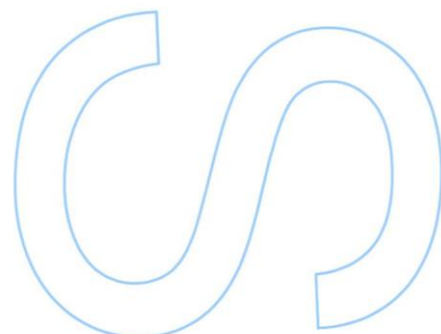
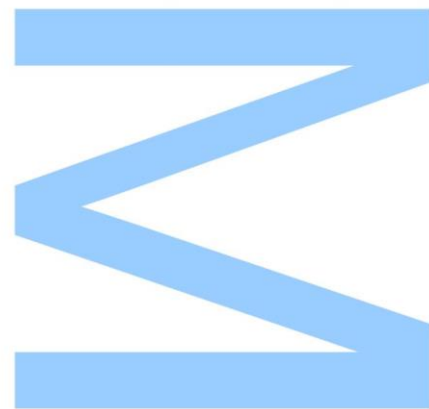
2013

Orientador

Ruth Maria Oliveira Pereira, Professor Auxiliar Convidado do Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Coorientador

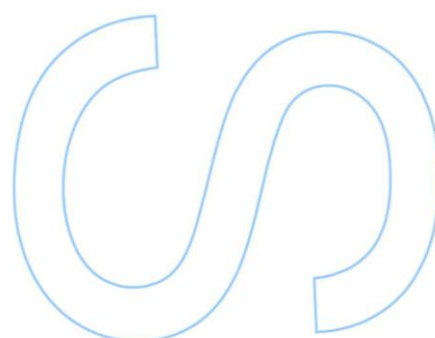
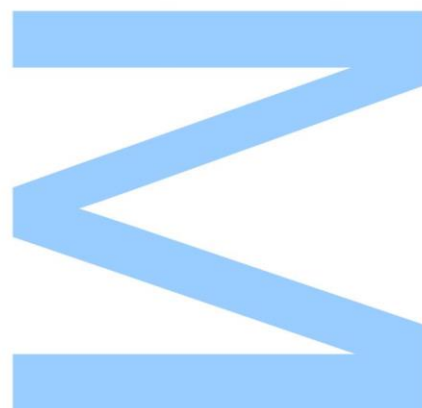
Isabel Lopes, Investigadora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro



Todas as correções determinadas
pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Teresa de Calcutá

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas a pessoas que ajudaram na realização deste trabalho.

À Doutora Ruth Pereira, obrigada pela atitude que tem perante a investigação ambiental, que me entusiasmou e me incutiu a vontade de aprender mais. Agradeço as correções, a orientação, o apoio constante e a confiança depositada no meu trabalho.

À Doutora Isabel Lopes agradeço a transmissão de conhecimentos e a simpatia com que me recebeu em Aveiro.

À Doutora Natividade Vieira agradeço o acompanhamento e o interesse demonstrado ao longo do meu percurso académico.

À Corticeira Amorim agradeço a disponibilização dos granulados de cortiça.

À Professora Teresa Rocha Santos do Instituto Piaget de Viseu pela realização das análises químicas.

Às técnicas Liliya, Teresa e à Dona Helena pelo apoio e pelo material que emprestaram.

A todo o grupo do laboratório, Carla, Liliana, Ana, Vanessa, Bruno e Pedro, um agradecimento especial pelo companheirismo e pelos momentos de partilha de experiências.

Um agradecimento especial à Ana Gavina, pelas palavras de incentivo, apoio e amizade nos momentos de maior dificuldade.

À Liliana Oliveira pelo apoio constante, pela transmissão de experiências e pela sua dedicação à área, tornando-se uma referência para mim.

À minha amiga Filipa, exemplo de luta e coragem, agradeço a sua grande amizade e a disponibilidade nos bons e nos maus momentos. Obrigada pelos conselhos sábios e pertinentes, que me fizeram crescer, enquanto pessoa.

À Sofia Brandão, à Ana Pires e ao José Vivas agradeço a amizade, os momentos divertidos, que foram fundamentais ao longo deste período de trabalho.

À minha irmã Helena agradeço a ajuda e a força que me incute, fazendo-me acreditar que sou capaz do que desejo.

Aos meus pais agradeço a cooperação e o apoio na concretização deste sonho.

RESUMO

Os efluentes das indústrias têxteis, uma externalidade de uma das mais importantes atividades económicas do país, são uma grande preocupação ambiental por conterem uma mistura complexa de substâncias químicas, conhecidas pela sua toxicidade e baixa biodegradabilidade. Por estas razões estes efluentes exigem um tratamento adequado antes da sua descarga no meio ambiente. Os métodos tradicionais apresentam muitas limitações como custos elevados, adição de mais produtos químicos e eficácia limitada na remoção de substâncias perigosas. Sendo por isso necessário encontrar uma solução de tratamento eficaz e de baixo custo. Neste contexto, este estudo teve como objetivo explorar a eficácia de dois materiais adsorventes na remoção de compostos orgânicos de um efluente têxtil, e na redução da sua toxicidade, nomeadamente: um subproduto da indústria corticeira (outra importante atividade económica nacional), o granulado de cortiça e nanopartículas de dióxido de titânio (TiO₂). A cortiça tem sido reportada como eficiente adsorvente para metais pesados e poluentes orgânicos por possuir uma composição química heterogénea que possibilita a formação de ligações com uma grande variedade de compostos. As nanopartículas (NPs) de TiO₂ possuem uma elevada área superficial, são física e quimicamente estáveis, de baixo custo e não são tóxicas.

Devido à complexidade destes efluentes a avaliação da sua perigosidade somente através de análises químicas é insuficiente, sendo necessário combinar as mesmas com análises ecotoxicológicas. Por este motivo, e de forma a fazer uma avaliação prévia da ecotoxicidade do efluente bruto e tratado de uma empresa têxtil do centro do país, realizaram-se ensaios de toxicidade para três níveis tróficos do ecossistema aquático, estudando a influência de amostras de efluente na bioluminescência de *Vibrio fischeri*, na sobrevivência de *Daphnia magna*, na taxa de alimentação de *D. magna* e no crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata* e de *Lemna minor*. Os resultados mostraram que o efluente bruto é tóxico e que o tratamento aplicado pela empresa têxtil reduz significativamente a sua toxicidade, persistindo contudo um nível de toxicidade sub-letal.

Os ensaios de adsorção avaliaram o desempenho dos adsorventes na remoção da cor, da condutividade, da carência química de oxigénio (CQO) e da toxicidade de efluentes têxteis. Foram usados três adsorventes: granulado de cortiça 1 (G1), com um diâmetro de 0,5-3 mm; granulado de cortiça 2 (G2), com um diâmetro de 3-5 mm e nanopartículas de dióxido de titânio com diâmetro inferior a 100 nm. Os ensaios de adsorção com os granulados de cortiça (G1 e G2) foram poucos satisfatórios na remoção de parâmetros químicos, como a cor, a condutividade e a CQO, contudo eliminaram a toxicidade do

efluente bruto, que apresentava um EC_{50} (%) (48 horas) de 24,18, para *D. magna*, indicativo de uma elevada toxicidade aguda. O ensaio com as nanopartículas de dióxido de titânio também não se apresentou eficaz na remoção da cor e da CQO, contudo também reduziu a toxicidade do efluente bruto para um EC_{50} (%) (48 horas) de 45,7%. A solução para uma completa remediação dos efluentes da indústria têxtil ainda não foi encontrada mas obtiveram-se resultados promissores, que poderão constituir uma mais-valia numa posterior avaliação da ecotoxicidade e da eficácia da adsorção em efluentes têxteis.

Palavras-chave: efluentes têxteis; adsorção; cortiça, nanopartículas de dióxido de titânio e toxicidade.

ABSTRACT

Textile industry effluent, a byproduct from one of the most important economic activities of the country, are of great environmental concern due to their complex chemical content, known by their toxicity and low biodegradability. For these reasons these effluents demand a proper treatment before being unload in the environment. Traditional methods present many limitations such as high cost, addition of more chemical compounds and limited efficiency in the removal of hazardous substances. Is therefore necessary to find a more efficient and cost effective solution. In this context, this study aims to explore the efficiency of two adsorbent materials in the removal of organic compounds from a textile effluent, and in the reduction of their toxicity, in particular: a byproduct from the cork industry (other important national economic activity), granulated cork and titanium dioxide (TiO_2). Cork has been reported as an efficient adsorbent for heavy metals and organic pollutants due to its heterogeneous chemical composition which enables the binding to a wide array of compounds. TiO_2 nanoparticles (NPs) have a high superficial area, they are chemically stable, cost effective and nontoxic.

Due to the complexity of this effluents their risk assessment only through chemical analyses is insufficient, demanding its combination with ecotoxicological analysis. For these reason, and in order to pre-assess the raw and treated effluents ecotoxicity from a textile company from the center of the country, toxicity assays were performed for three trophic levels of the aquatic ecosystem, studying the influence of the samples in the bioluminescence for *Vibrio fischeri*, in the survival of *Daphnia magna*, in the feed rate *D. magna* and the growth of *Pseudokirchinella subcapitata* and *Lemna minor*. The results show that raw effluent is toxic and that the treatment performed at the textile company reduces significantly their toxicity, although a level of sub-lethal toxicity remains.

Adsorption assays evaluate the performance of the adsorbents in the removal of color, conductivity, chemical oxygen demand (COD) and toxicity of textile effluents. Three adsorbents were used: granulated cork, 1 (G1), with 0,5-3 mm diameter; granulated cork 2 (G2), with a 3-5 mm diameter; and titanium dioxide with 100nm diameter. The granulated cork (G1 e G2) adsorption assays were unsatisfactory in the removal of chemical parameters, such as color, conductivity, COD, however they eliminated the toxicity of the raw effluent, which presented a 24,18 for *D. magna* indicating acute toxicity. The TiO_2 nanoparticles assay did not prove to be efficient in the removal of colour and COD, nevertheless it also reduced the raw effluent's toxicity to a 45% EC_{50} (48 hours). The solution for the textile industry effluents complete remediation has not been found yet

however promising findings were achieved, which may be an asset in a future evaluation of textile effluents ecotoxicity and adsorption efficiency.

Key-words: Textile effluents, adsorption, cork, titanium dioxide nanoparticles, toxicity

ÍNDICE

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
LISTA DE QUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS	xx
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	1
1.1. A indústria têxtil o seu processo de fabrico e externalidades	3
1.1.1. Características dos efluentes de indústrias têxteis e enquadramento legal das descargas	5
1.1.2. Impacto dos efluentes têxteis nos ecossistemas aquáticos	10
1.2. Metodologias convencionais de tratamento de efluentes de indústrias têxteis e tratamentos alternativos já testados para estes efluentes.	11
1.3 Adsorção.....	16
1.3.1. Tipos de adsorção.....	16
1.3.2. Modelos de equilíbrio	17
1.3.2.1. Isotérmica de Langmuir	17
1.3.2.2. Isotérmica de Freundlich	18
1.3.3. Fatores que afetam a capacidade de adsorção	19
1.3.3.1. pH	20
1.3.3.2. Temperatura.....	20
1.3.3.3. Dimensão e dose de adsorvente	20
1.3.3.4. Concentração inicial de adsorbato.....	21
1.3.3.5. Misturas de solutos	21
1.3.3.6. Velocidade de agitação	21
1.3.4. Adsorventes	21
1.3.4.1. Carvão ativado	22
1.3.4.2. Adsorventes de baixo custo	22

1.4. Cortiça como adsorvente	23
1.4.1. Cortiça e suas potencialidades na adsorção de compostos orgânicos	27
1.5. Nanotecnologia	28
1.5.1. Uso de nanopartículas de dióxido de titânio no tratamento de águas residuais	28
1.6. Importância da avaliação ecotoxicológica de efluentes	30
1.6.1. Organismos mais utilizados em ensaios de toxicidade de água doce.....	31
1.6.1.1. Algas	31
1.6.1.2. Plantas superiores.....	31
1.6.1.3. Cladóceros	32
1.6.1.4. Bactérias	33
1.7. Objetivos e estrutura da tese	33
1.8. Referências Bibliográficas.....	34
CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL	45
2.1. Introdução	47
2.2. Material e Métodos.....	47
2.2.1. Caracterização físico-química das amostras de efluente têxtil utilizadas	47
2.2.1.1. Medição da cor, condutividade, Sólidos Dissolvidos Totais (SDT) e pH	47
2.2.1.2. Análise química do efluente por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS)	48
2.2.2. Ensaio de toxicidade com <i>Vibrio fischeri</i> , Microtox®.....	49
2.2.3. Ensaio de toxicidade com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	50
2.2.3.1. Manutenção das culturas de <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	50
2.2.3.2. Ensaio de inibição do crescimento de <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	51
2.2.4. Ensaio de Toxicidade com <i>Lemna minor</i>	54
2.2.4.1. Obtenção e manutenção de <i>Lemna minor</i>	54
2.2.4.2. Ensaio de inibição do crescimento de <i>Lemna minor</i>	55
2.2.5. Ensaios de toxicidade com <i>Daphnia magna</i>	57

2.2.5.1. Manutenção e cultivo de <i>Daphnia magna</i>	57
2.2.5.2. Ensaio Agudo de Imobilização com <i>Daphnia magna</i>	57
2.2.5.3. Ensaio de inibição alimentar com <i>Daphnia magna</i>	58
2.2.6. Análise estatística	59
2.3. Resultados e Discussão.....	60
2.3.1. Caracterização físico-química das amostras de efluente têxtil utilizadas.....	60
2.3.2. Ensaio de toxicidade com <i>Vibrio fischeri</i> , Microtox®.....	65
2.3.3. Ensaio de inibição do crescimento com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	66
2.3.4. Ensaio de inibição do crescimento com <i>Lemna minor</i>	69
2.3.5. Ensaio Agudo de Imobilização com <i>Daphnia magna</i>	76
2.3.6. Ensaio subletal de inibição da alimentação em <i>Daphnia magna</i>	79
2.3.7. Comparação entre a série de ensaio toxicológicos aplicados.....	82
2.4. Conclusão	85
2.5. Referências Bibliográficas.....	86
CAPÍTULO 3 - Tratamento de efluente têxtil através de adsorção com cortiça e com nanopartículas de dióxido de titânio.....	89
3.1. Introdução.....	91
3.2. Material e Métodos.....	93
3.2.1. Caracterização química do efluente têxtil	93
3.2.1.1. Medição da cor, condutividade, pH e CQO.....	93
3.2.1.2. Análise química do efluente por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS).....	93
3.2.2. Adsorção com cortiça	94
3.2.2.1. Ensaios de otimização de adsorção com cortiça	94
3.2.2.2. Ensaios finais de adsorção com cortiça.....	95
3.2.2.3. Avaliação da toxicidade da cortiça e do efluente tratado com cortiça	96
3.2.3. Adsorção com nanopartículas de dióxido de titânio.....	97
3.2.3.1. Ensaios de adsorção com nanopartículas de dióxido de titânio.....	97

3.2.2.2. Avaliação da toxicidade do dióxido de titânio e do efluente tratado com dióxido de titânio	97
3.3. Resultados e Discussão	98
3.3.1. Caracterização química dos efluentes têxteis brutos	98
3.3.1. Ensaio de otimização da adsorção com cortiça	102
3.3.2. Ensaio finais de adsorção com cortiça.....	114
3.3.3. Toxicidade dos granulados de cortiça e do efluente tratado com os granulados de cortiça	128
3.3.4. Ensaio de adsorção com nanopartículas (NPs) de dióxido de titânio.....	131
3.3.4.1. Toxicidade das nanopartículas de dióxido de titânio e do efluente tratado com estas nanopartículas	135
3.4. Conclusão	137
3.5. Referências Bibliográficas.....	139
ANEXOS.....	143
Anexo I – Ensaio de inibição do crescimento em <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	145
Anexo II – Ensaio de Toxicidade em <i>Lemna minor</i>	148
Anexo III – Ensaio de imobilização em <i>Daphnia magna</i>	157
Anexo IV – Ensaio de inibição alimentar em <i>Daphnia magna</i>	162

LISTA DE QUADROS

Tabela 1.1 – Características comuns dos efluentes da indústria têxtil algodoeira por etapa de processamento. Fonte: Silva, 1999.....	5
Tabela 1.2 - Valores limites de emissão e valores máximos admissíveis para descarga das águas residuais do sector dos têxteis, excluindo o subsector dos lanifícios. Fonte: MESA, 1997 e MA, 1998.	6
Tabela 1.3 – Normas de qualidade ambiental (NQA) de substâncias prioritárias e de outros poluentes definidos pela Diretiva 2008/105/CE e a gama de valores encontrados em efluentes de indústria têxtil para estas substâncias (CITEVE, 2012).....	9
Tabela 1.4 – Principais métodos de tratamento de efluentes têxteis, bem como as suas vantagens e limitações.	15
Tabela 1.5 – Características dos granulados de cortiça e do carvão ativado obtidas por porosimetria de mercúrio e o número de iodo (Domingues et al. 2005; Domingues, 2005; Brito et al., 2010)	25
Tabela 1.6 – Capacidade máxima de adsorção (mg/g) de metais pela cortiça.....	27
Tabela 2.1 – Composição química do meio de cultura de <i>P. subcapitata</i> MBL. Adaptado de Soares (1989).....	50
Tabela 2.2 – Composição do meio de cultura STEINBERG para <i>L. minor</i> (OCDE, 2006).55	
Tabela 2.3 – Composição do meio artificial para ensaios de toxicidade com organismos de água doce, meio ASTM (OCDE, 2004).	57
Tabela 2.4 – Caracterização dos efluentes usados nos ensaios de toxicidade.....	61
Tabela 2.5 – Composição química analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa das amostras de efluente têxtil (EB2 e ET1).....	64
Tabela 2.5 (Continuação) – Composição química analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa das amostras de efluente têxtil (EB2 e ET1).	65
Tabela 2.6 – Valores de EC ₅₀ e de EC ₂₀ (%) para o Efluente Tratado 1 e para o Efluente Bruto 2 relativamente à redução da bioluminescência em <i>V. fischeri</i> . Valores entre parêntesis correspondem ao intervalo de confiança de 95%.	66
Tabela 2.7 – Valores de EC ₅₀ para o Efluente Bruto 2 (EB2) e para os Efluentes Tratados 1 e 2 (ET1 e ET2) relativamente à percentagem de inibição do crescimento de <i>P. subcapitata</i> . Comparação dos valores deste estudo com bibliografia.	69
Tabela 2.8 – Valores de EC ₅₀ e EC ₂₀ em percentagem de efluente para 95% de confiança para a inibição de crescimento de frondes e para a inibição do desenvolvimento de biomassa seca.....	74

Tabela 2.9 – Valores de EC ₅₀ para a inibição de crescimento de frondes e para a inibição do desenvolvimento de biomassa seca em comparação com outros bioensaios em efluentes têxteis.....	75
Tabela 2.10- Valor de EC ₅₀ (%) para a imobilização em <i>D. magna</i> do efluente bruto 2 (EB2) para as 24 e as 48 horas e comparação com outros estudos publicados.	78
Tabela 2.11– Valor de EC ₅₀ (%) para a imobilização em <i>D. magna</i> do efluente tratado 1 (ET1) para as 24 e as 48 horas e comparação com outros estudos publicados.....	79
Tabela 2.12 – Valores de EC ₅₀ e de EC ₂₀ (%) para o Efluente Tratado 1 e para o Efluente Bruto 2 relativamente à redução na taxa de alimentação em <i>Daphnia magna</i>	81
Tabela 2.13 – Valores dos EC ₅₀ e das unidades tóxicas (UT) da série de bioensaios realizados às amostras de efluente tratado (ET1 e ET2) e à amostra de efluente bruto (EB2).	84
Tabela 3.1 – Caracterização dos efluentes usados nos ensaios de remediação.	99
Tabela 3.2 – Composição química analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa de amostras de efluente têxtil EB1 e EB2.	101
Tabela 3.2 (Continuação) – Composição química analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa de amostras de efluente têxtil EB1 e EB2.	102
Tabela 3.3 – Resultados das ANOVAs bifactoriais efetuadas aos parâmetros estudados nos ensaios preliminares de adsorção com cortiça para testar o efeito dos fatores tratamento e tempo de exposição.	103
Tabela 3.4 - Resultados da análise de variância de uma via (ANOVA) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com o granulado 1 ou o granulado 2 para avaliar as variações de cor nos diferentes tempos de exposição.....	105
Tabela 3.5 - Resultados das análises unifactoriais realizadas para testar as diferenças entre os valores de condutividade registados para cada tempo de contacto, entre o controlo do efluente (EB1) e o efluente tratado com Granulado 1 e Granulado 2.....	108
Tabela 3.6 – Valores da Carência Química de Oxigénio (CQO) e % remoção da CQO relativamente ao controlo do Efluente Têxtil para as 48 e para as 72 horas de contacto. Os valores apresentados correspondem a uma mistura composta de 3 réplicas de cada tratamento.	111
Tabela 3.7 – Constituintes químicos obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa do controlo do EB2 e do EB2 tratado com G1 e com G2. R corresponde à percentagem de remoção dos constituintes químicos.	127
Tabela 3.7 (Continuação) – Constituintes químicos obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa do controlo do EB2 e do EB2 tratado com G1 e com G2. R corresponde à percentagem de remoção dos constituintes químicos.	128

Tabela 3.8 – Percentagem de imobilização em <i>Daphnia magna</i> provocada pelo meio ASTM que esteve em contacto com o Granulado 1, após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.	130
Tabela 3.9 - Percentagem de imobilização em <i>Daphnia magna</i> provocada pelo meio ASTM que esteve em contacto com o Granulado 2, após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.	130
Tabela 3.10 – Percentagem de imobilização em <i>Daphnia magna</i> provocada pelo EB2 tratado com Granulado 1 após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.	131
Tabela 3.11 - Percentagem de imobilização em <i>Daphnia magna</i> provocada pelo EB2 tratado com Granulado 2 após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.	131
Tabela 3.12 – ANOVA bifactorial aos parâmetros estudados nos ensaios de adsorção com nanopartículas de dióxido de titânio para testar o efeito de diferentes concentrações de adsorvente e do tempo de exposição.....	132
Tabela 3.13 – Percentagem de imobilização em <i>Daphnia magna</i> provocada pelo meio ASTM que esteve em contacto com o dióxido de titânio, após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.....	137
Tabela 3.14 - Percentagem de imobilização em <i>Daphnia magna</i> provocada pelo EB2 tratado com 1g/l de NPs de TiO ₂ , após 24 e 48 horas de exposição e, respetivos valores de pH inicial e final.....	137
Tabela I.1 – Resultados da análise ANOVA unifatorial através do SPSS para o ensaio de inibição do crescimento em <i>P.subcapitata</i>	145
Tabela I.2 – Teste de Dunnett (comparações múltiplas) para o ensaio de inibição do crescimento em <i>P.subcapitata</i>	146
Tabela I.3 – Teste de Tukey HSD (subconjuntos homogéneos) para o ensaio de inibição do crescimento em <i>P.subcapitata</i>	147
Tabela II.1 – Ensaio preliminar de toxicidade em <i>Lemna minor</i> para o Efluente Bruto 2 sem ajuste de pH.....	148
Tabela II.2 – Valores de pH, do número de frondes e da biomassa seca no início e no fim (após 7 dias) do ensaio de toxicidade do Efluente Bruto 2 em <i>Lemna minor</i> . A seta indica que foi feito um ajustamento de pH com NaCl a 1Molar.	149
Tabela II.3 – Valores da taxa média de crescimento específico e de percentagem de inibição de crescimento em <i>Lemna minor</i> para o Efluente Tratado 1.....	151
Tabela II.4 – Valores de pH, do número de frondes e da biomassa seca no início e no fim (após 7 dias) do ensaio de toxicidade do Efluente Tratado 2 em <i>Lemna minor</i>	152

Tabela II.5 – Resultados da análise ANOVA unifatorial através do SPSS para o ensaio de toxicidade em <i>L.minor</i>	154
Tabela II.6 – Teste de Dunnett (comparações múltiplas) para o ensaio de toxicidade em <i>L.minor</i>	155
Tabela II.7 – Teste de Tukey HSD (subconjuntos homogêneos) para o ensaio de toxicidade em <i>L.minor</i>	156
Tabela III.1 – Valores de pH e de Oxigénio Dissolvido (OD) no início e no final (após 48 horas) do ensaio agudo de imobilização em <i>Daphnia magna</i> para o Efluente Têxtil Bruto 2.	157
Tabela III.2 – Percentagem de imobilização em <i>Daphnia magna</i> provocada pelo Efluente Têxtil Bruto 2 após 24 e 48 horas de exposição.....	158
Tabela III.3 – Resultados da análise ANOVA unifatorial através do SPSS para o ensaio agudo de imobilização em <i>Daphnia magna</i>	158
Tabela III.4 – Teste de Dunnett (comparações múltiplas) para o ensaio agudo de imobilização em <i>Daphnia magna</i>	159
Tabela III.5 – Teste de Tukey HSD (subconjuntos homogêneos) para o ensaio agudo de imobilização em <i>Daphnia magna</i>	160
Tabela III.6 – Valores do teste de Qui-quadrado para verificar a adequação ao modelo Probit do s resultados para o EB2.....	160
Tabela III.7 – Valores de pH e de Oxigénio Dissolvido (OD) no início e no final (após 48 horas) do ensaio agudo de imobilização em <i>Daphnia magna</i> para o Efluente Têxtil Tratado 1.	161
Tabela III.8 – Percentagem de imobilização em <i>Daphnia magna</i> provocada pelo Efluente Têxtil Tratado 1 após 24 e 48 horas de exposição.....	161
Tabela IV.1 – Resultados da análise ANOVA unifatorial através do SPSS para o ensaio de inibição alimentar em <i>D.magna</i>	162
Tabela IV.2 – Teste de Dunnett (comparações múltiplas) para o ensaio de inibição alimentar em <i>D.magna</i>	162
Tabela IV.3 – Teste de Tukey HSD (subconjuntos homogêneos) para o ensaio de inibição alimentar em <i>D.magna</i>	163

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Diagrama do processo de fabrico do sector têxtil e dos resíduos gerados. Fonte: Rodrigues, 2007.	4
Figura 1.2 – Exemplo de curvas da isotérmica de Langmuir, em que se compara a eficácia entre o bioissorvente A e o B na remoção de um único sorbato. Adaptado de Volesky, 2007.	18
Figura 1.3 - Representação esquemática do procedimento experimental de uma adsorção em sistema batch. Adaptado: Vijayaraghavan e Yun, 2008.	19
Figura 2.1- Esquema representativo do sistema de cultura da alga <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (Antunes, 2001). 1) Cultura de <i>P. subcapitata</i> em meio de cultura MBL; 2) Mangueira de arejamento; 3) Mangueira com gaze; 4) Filtro de membrana de 1,2 µm; (Antunes, 2001).	51
Figura 2.2 – Esquema da grelha de contagem da câmara de <i>Neubauer</i>	52
Figura 2.3 – Esquema representativo do preenchimento das microplacas usadas para o ensaio.	53
Figura 2.4 – Taxa de crescimento específico (dias ⁻¹) (esquerda) e percentagem de inibição do crescimento de <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (direita) para diferentes diluições do Efluente bruto 2 (EB2). As barras de erro correspondem ao desvio padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	66
Figura 2.5 – Taxa de crescimento específico (dias ⁻¹) (esquerda) e percentagem de inibição do crescimento de <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (direita) para diferentes diluições do Efluente tratado 1 (ET1). As barras de erro correspondem ao desvio padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	67
Figura 2.6– Taxa de crescimento específico (dias ⁻¹) (esquerda) e percentagem de inibição do crescimento de <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (direita) para diferentes diluições do Efluente tratado 2 (ET2). As barras de erro correspondem ao desvio padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	68
Figura 2.7 – Taxa média de crescimento específico (dias ⁻¹) (esquerda) e inibição de crescimento (direita) do número de frondes para as diferentes diluições de Efluente Bruto2 (EB2) com ajuste de pH. As barras representam o desvio-padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	70
Figura 2.8 – Taxa média de crescimento específico (dias ⁻¹) (esquerda) e inibição do desenvolvimento de biomassa seca (direita) para as diferentes diluições de Efluente Bruto 2 (EB2) com ajuste de pH. As barras representam o desvio-padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	71

Figura 2.9 – Taxa média de crescimento específico (dias ⁻¹) (esquerda) e inibição de crescimento (direita) do número de frondes para as diferentes diluições de Efluente Tratado 2 (ET2). As barras representam o desvio-padrão padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	72
Figura 2.10 – Taxa média de crescimento específico (dias ⁻¹) (esquerda) e inibição do desenvolvimento de biomassa seca (direita) para as diferentes diluições de Efluente Tratado 2 (ET2). As barras representam o desvio-padrão padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	73
Figura 2.11 – Percentagem de imobilização de <i>D. magna</i> , após 24 horas (esquerda) e após as 48 horas (direita) de exposição a diferentes concentrações de Efluente Bruto 2. Os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	77
Figura 2.12 – Concentração média de algas ingeridas numa hora (células/ml/h) para as diferentes concentrações de Efluente Bruto 2 em comparação com o controlo (0) (esquerda). Percentagem de inibição da alimentação, relativamente ao controlo, em <i>Daphnia magna</i> durante 24 horas de exposição a diferentes concentrações de Efluente Bruto 2 (direita). As barras de erro correspondem ao desvio-padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	80
Figura 2.13 – Concentração média de algas ingeridas numa hora (células/ml/h) para as diferentes concentrações de Efluente Tratado 1 em comparação com o controlo (0) (esquerda). Percentagem de inibição da alimentação, relativamente ao controlo, em <i>Daphnia magna</i> durante 24 horas de exposição a diferentes concentrações de Efluente Tratado 1 (direita). As barras de erro correspondem ao desvio-padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).	81
Figura 3.1 – Adsorventes usados nos ensaios de adsorção, (a) Granulado 1 e (b) Granulado 2.	95
Figura 3.2 – Esquema representativo do procedimento anterior ao Ensaio Agudo de Imobilização em <i>Daphnia magna</i>	97
Figura 3.3 - Cor, em unidades de Platina-Cobalto, do efluente têxtil bruto (EB1) tratado com o Granulado 1 (G1) e do controlo do Granulado 1, a diferentes tempos de contacto. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c, representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre o controlo do efluente (EB1) e o efluente tratado com G1, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.	105
Figura 3.4 - Cor, em unidades de Platina-Cobalto, do efluente têxtil bruto (EB1) tratado com o Granulado 2 (G2) e do controlo do Granulado 2, a diferentes tempos de contacto.	

As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c, representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre o controlo do efluente (EB1) e o efluente tratado com G2, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.	106
Figura 3.5 – Imagem dos controlos (água destilada) após tratamento com o granulado de cortiça 1 (G1) e com o granulado de cortiça 2 (G2). As amostras foram filtradas com filtro de café.....	106
Figura 3.6 - Aspeto do efluente têxtil EB1 tratado com o granulado de cortiça 1 (G1) e com o granulado de cortiça 2 (G2) após filtração com filtro de café.	107
Figura 3.7 – Efluente Bruto 1 (EB1) sem tratamento.....	107
Figura 3.8 – Condutividade, em $\mu\text{S}/\text{cm}$, do controlo do efluente e do efluente têxtil (EB1) tratado com Granulado 1 (G1) ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c, representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL EB1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre o controlo do efluente (EB1) e o efluente tratado com G1, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.	109
Figura 3.9 – Condutividade, em $\mu\text{S}/\text{cm}$, do controlo do efluente e do efluente têxtil (EB1) tratado com o Granulado 2 (G2) ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL EB1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre o controlo do efluente (EB1) e o efluente tratado com G2, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.	109
Figura 3.10 – Condutividade, em $\mu\text{S}/\text{cm}$, do controlo Granulado 1 (G1) e do Granulado 2 (G2) ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b, c e d representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o Controlo com o Granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. O Controlo do Granulado 2 não apresentou diferenças significativas ao longo do tempo.	110
Figura 3.11 – Valor de pH para o controlo do efluente, para o efluente tratado com G1 e para o efluente tratado com G2 ao longo do tempo. As barras de erro representam o	

desvio padrão. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) para o CTL do efluente ao longo do tempo. As letras a e b minúsculas representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. As letras A, B e C maiúsculas representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para EB1 tratado com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre EB1 tratado com G1 e o EB1 tratado com G2, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.112

Figura 3.12 – Valor de pH dos controlos dos granulados ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1, 2 e 3 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Não há diferenças significativas entre os controlos para cada tempo de contacto, segundo análise por ANOVA unifactorial.112

Figura 3.13 – Volume (cm^3) dos granulados para os dois tratamentos, CTL G1 e EB1 tratado com G1, comparativamente ao G1 seco, ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão.113

Figura 3.14 – Volume (cm^3) dos granulados para os dois tratamentos, CTL G1 e EB1 tratado com G2, comparativamente ao G2 seco, ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.114

Figura 3.15 - Cor, em unidades de Platina-Cobalto, do efluente tratado com Granulado 1 (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 (G2), em comparação com os controlos dos granulados e com os controlos do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1, 2 e 3 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representa a diferença significativa entre o CTL com G1 e o CTL com G2, segundo uma análise ANOVA unifactorial.116

Figura 3.16- Visualização do resíduo libertado pelos granulados de cortiça após o ensaio de adsorção com agitação contínua. G1: Granulado 1 e G2: Granulado 2.117

Figura 3.17- Cor, em unidades de Platina-Cobalto, do efluente tratado com Granulado 1 lavado (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 lavado (G2), em comparação com os

controles dos granulados e com os controles do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.118

Figura 3.18- Condutividade, em $\mu\text{S}/\text{cm}$, do efluente tratado com Granulado 1 (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 (G2), em comparação com os controles dos granulados lavados e com o controlo do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.119

Figura 3.19- Condutividade, em $\mu\text{S}/\text{cm}$, do efluente tratado com Granulado 1 lavado (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 lavado (G2), em comparação com os controles dos granulados lavados e com o controlo do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com G1 lavado, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com G2 lavado, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.120

Figura 3.20 – Comparação dos valores de CQO ($\text{mg}/\text{l O}_2$) das amostras de EB2 tratadas com Granulado 1 (G1) e com Granulado 2 (G2). Os valores em percentagem por cima das barras correspondem à percentagem de remoção de CQO relativamente ao controlo do efluente.121

Figura 3.21 – Valores de pH do efluente tratado com Granulado 1 (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 (G2), em comparação com os controles dos granulados e com os controles do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1, 2 e 3 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.122

Figura 3.22 – Valores de pH do efluente tratado com Granulado 1 lavado (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 lavado (G2), em comparação com os controles dos

granulados e com os controlos do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1 lavado, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1, 2 e 3 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2 lavado, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.123

Figura 3.23 – Volume dos granulados após os ensaios de adsorção, em comparação com o G1 e o G2 antes do ensaio. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.124

Figura 3.23 – Volume dos granulados após os ensaios de adsorção com lavagem dos granulados, em comparação com o G1 e o G2 antes do ensaio. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.124

Figura 3.24 – Cor (em unidades Platina de Cobalto) dos ensaios de adsorção ao EB2 com 2 concentrações de nanopartículas de dióxido de titânio (0,1 e 1 g/l). As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre diferentes tempos de exposição para a concentração 0,1g/l, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre diferentes tempos de exposição para a concentração 1g/l, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas...133

Figura 3.25 – Valor de pH dos ensaios de adsorção ao EB2 com 2 concentrações de nanopartículas de dióxido de titânio (0,1 e 1 g/l). As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre diferentes tempos de exposição para a concentração 0,1g/l, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.134

Figura 3.26 - Valor de CQO (mg/l O₂) dos ensaios de adsorção com EB2 e com duas concentrações de nanopartículas de dióxido de titânio (0,1 e 1 g/l). Os valores em percentagem correspondem a taxa de remoção da CQO em relação ao valor de CQO do EB2.....135

Figura II.1 – Visualização fotográfica de uma réplica de cada concentração testada no ensaio de toxicidade do Efluente Bruto 2 em <i>Lemna minor</i>	150
Figura II.2 – Visualização fotográfica de uma réplica de cada concentração testada no ensaio de toxicidade do Efluente Tratado 2 em <i>Lemna minor</i>	153

LISTA DE ABREVIATURAS

ASTM	American Standard of Testing and Materials
B.E.T.	Brunauer, Emmett e Teller
CBO ₅	Carência Bioquímica de Oxigénio
CQO	Carência Química de Oxigénio
EB	Efluente bruto recolhido na empresa têxtil
EC ₅₀	Concentração em que 50% dos indivíduos apresentam o efeito em estudo
ET	Efluente tratado na empresa têxtil
G1	Granulado de cortiça 1, com diâmetro de 0,5-3 mm
G2	Granulado de cortiça 2, com diâmetro de 3-5 mm.
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massa
NPs	Nanopartículas
NQA	Normas de Qualidade Ambiental
OD	Oxigénio Dissolvido
OECD/OCDE	Organization for Economic Co-Operation And Development
pH	Potencial hidrogeniónico
SDT	Sólidos Dissolvidos Totais
TiO ₂	Dióxido de Titânio
VLA	Valor Máximo Admissível
VLE	Valor Limite de Emissão

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1.1. A indústria têxtil o seu processo de fabrico e externalidades

A indústria têxtil é um dos sectores industriais com maior representatividade em Portugal e no resto da Europa. Este sector industrial caracteriza-se pela elevada taxa de consumo e de rejeição de água (Silva, 1999). Na Figura 1.1 estão representadas as principais etapas do processamento das matérias-primas na indústria têxtil, com as correntes de efluentes e de resíduos sólidos (Rodrigues, 2007). As principais matérias-primas utilizadas são os materiais têxteis (provenientes das fibras), os corantes, os branqueadores, os tensioativos, os espessantes, os produtos de acabamento e diversos produtos químicos. O processamento de cada matéria-prima é específico mas pode-se resumir nos seguintes passos (Silva, 1999; Santos *et al.*, 2007): (i) preparação da matéria-prima; (ii) fiação, processo mecânico a seco que permite obter o fio; (iii) malharia, passagem de fio a malha; (iv) tecelagem, passagem de fio a tecido, com aplicação de um agente encolante¹, tal como o amido de álcool polivinílico, (PVA) e o carboximetilcelulose, adicionado para proporcionar resistência às fibras e minimizar a rutura; (v) desencolagem por via enzimática ou com detergentes para retirar o encolante¹ do tecido; (vi) fervura, tratamento com hidróxido de sódio para remover impurezas naturais (ceras, pectinas e álcoois); (vii) branqueamento, operação com oxidantes (hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogénio, persulfatos, organoclorados) com o objetivo de eliminar o corante natural que se encontra sobre as fibras; (viii) mercerização², etapa aplicada só no processamento do algodão e que visa dar-lhe mais brilho e resistência. Realizada com altas concentrações de hidróxido de sódio a que, normalmente também se adicionam agentes molhantes ou detergentes. No final do processo é feita uma lavagem para retirar o excesso de hidróxido de sódio, tornando-se, por isso, a principal etapa responsável pela alcalinidade dos efluentes têxteis; (ix) tingimento, aplicação de corantes às malhas e tecidos. Nesta etapa promove-se uma redução do corante e de seguida uma oxidação de modo a fixá-lo na fibra. Sendo realizada em meio alcalino e no final efetuada uma lavagem com água e detergentes para remover o excesso de corante não fixado. Esta etapa requer também grandes volumes de água no banho de tingimento e na lavagem. Dependendo do processo de tingimento, muitos produtos químicos, tais como metais, sais, agentes tensioativos, auxiliares de processamento orgânicos, sulfureto e formaldeído, podem ser adicionados para melhorar a adsorção do corante nas fibras; (x)

¹ Encolante – composto hidrofóbico à base de amido, que tem como função proteger as fibras das agressões mecânicas da fase de tecelagem, mas que tem que ser removido para não bloquear os processos de tingimento e acabamentos (Machado, 2008).

² Mercerização – tratamento alcalino para o algodão, tornando-o mais brilhante e resistente (Machado, 2008).

estamparia, processo que permite colocar padrões de uma ou várias cores sobre o material têxtil, uma vez que através do tingimento apenas se obtém uma coloração uniforme do material têxtil; (xi) acabamento, etapa que permite conferir ao produto têxtil as características finais pretendidas. Os acabamentos podem ser químicos ou mecânicos. Um exemplo de acabamento químico é o tratamento anti-enrugamento com formaldeído. Como acabamento mecânico, refere-se como um exemplo o encolhimento por compressão, para evitar que o artigo têxtil encolha na lavagem e (xii) confeção que inclui as operações de moldagem, corte e confeção.

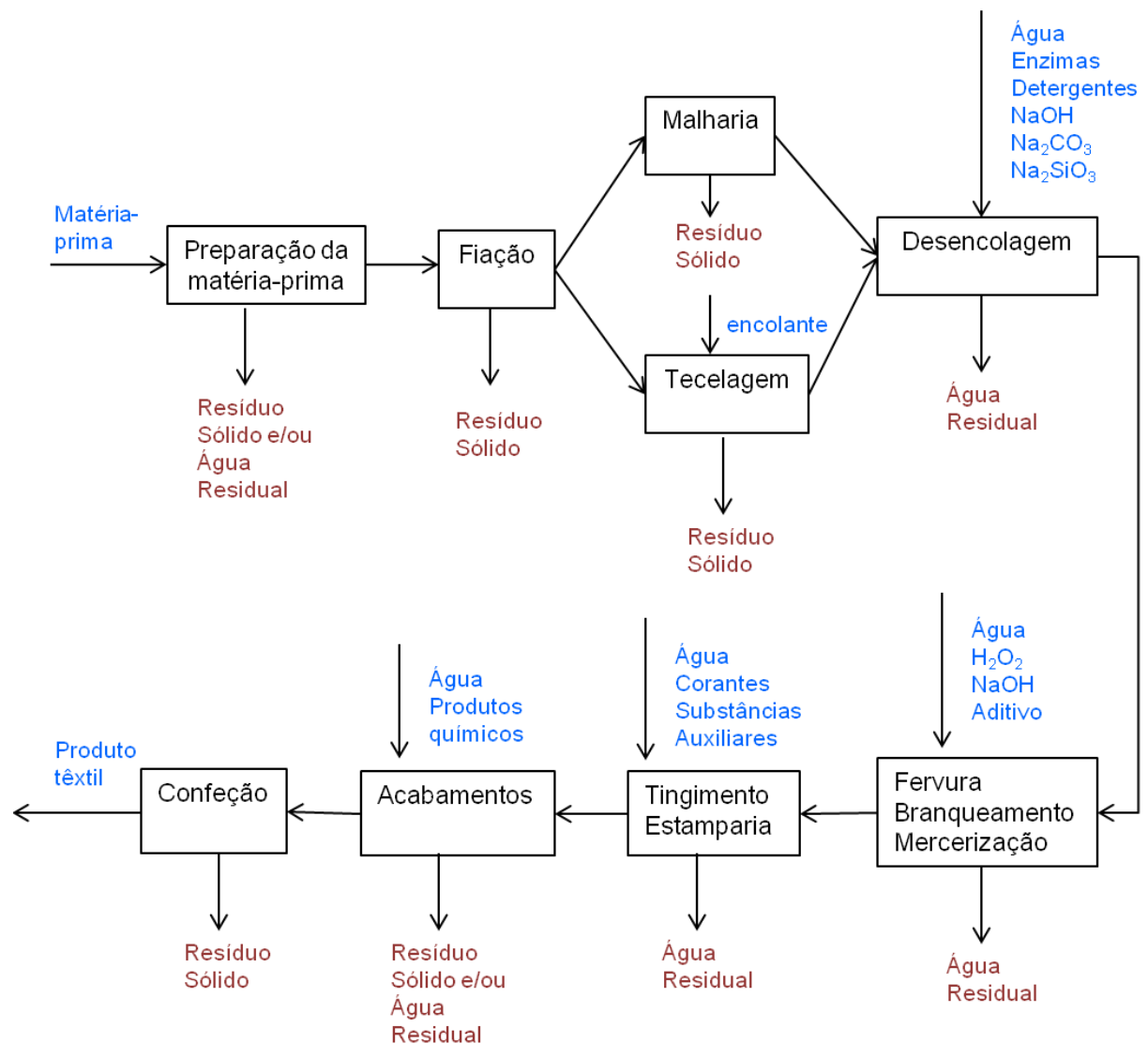


Figura 1.1 - Diagrama do processo de fabrico do sector têxtil e dos resíduos gerados. Fonte: Rodrigues, 2007.

1.1.1. Características dos efluentes de indústrias têxteis e enquadramento legal das descargas

Como se verifica no diagrama da Figura 1.1, o processamento têxtil envolve muitas e diferentes etapas, sendo que em quase todas elas ocorre a produção de águas residuais. Para a produção de 1 kg de tecido são necessários cerca de 200-400 litros de água (Hussein, 2012). Devido ao elevado consumo de água e à composição das águas residuais, a indústria têxtil é considerada como a mais poluente comparativamente a todos os setores industriais (Tehrani-Bagha *et al.*, 2010). Além disso, é necessária água de boa qualidade em diversas etapas do processamento, como a lavagem/desencolagem, o branqueamento, o tingimento e a estamparia (Fersi *et al.*, 2005). Os processos químicos necessários para preparar, purificar, corar e finalizar adequadamente o produto também consomem bastante água (Correia *et al.*, 1994).

Os efluentes das indústrias têxteis contêm corantes e uma mistura complexa de substâncias químicas, que variam de acordo com a etapa de processamento, com os corantes utilizados e com os materiais têxteis usados. Contêm sólidos suspensos e dissolvidos tais como corantes, sais e outros produtos químicos auxiliares, que originam uma poluição não só orgânica mas também inorgânica (Ellouze *et al.*, 2012). Ao longo do processamento têxtil verificam-se variações extremas em diferentes parâmetros tais como a carência química de oxigênio (CQO), a carência bioquímica de oxigênio (CBO₅), o pH e os sólidos dissolvidos totais (SDT), como se verifica no exemplo da Tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Características comuns dos efluentes da indústria têxtil algodoeira por etapa de processamento. Fonte: Silva, 1999.

Parâmetro	Desencolagem	Branqueamento	Tingimento	Acabamento
pH	5,5	10	10,2	10,7
CBO ₅ (mg/l O ₂)	1595	114	108	204
CQO (mg/l O ₂)	3320	320	816	960
SDT (mg/l)	5650	536	847	1127

Como já foi referido, a indústria têxtil utiliza intensivamente químicos, mas a principal preocupação referida na bibliografia são os corantes, que são frequentemente fonte de metais, sais, compostos orgânicos halogenados (AOX) e cor. Contudo, além dos corantes uma grande variedade de produtos químicos são utilizados, com a finalidade de melhorar as características do produto têxtil, tais como antifúngicos, acaricidas, repelentes de água

e de manchas de gordura. Estes produtos químicos são conhecidos pela sua toxicidade e pela baixa biodegradabilidade (Sarayu e Sandhya, 2012).

Muitos dos corantes e dos seus produtos de degradação utilizados na indústria têxtil são tóxicos e/ou mutagénicos (Santos *et al.*, 2007). Além disso são substâncias estáveis, que podem permanecer no ambiente por um longo período de tempo. Por exemplo, o tempo de meia vida do corante Azul Reativo Hidrolisado 19 é de cerca de 46 anos, a valores de pH 7 e a 25°C (Hao *et al.*, 2000).

Um grande problema do ponto de vista ambiental é que a maioria da água utilizada na indústria têxtil, em países subdesenvolvidos, é descarregada nos ecossistemas aquáticos como um resíduo, logo não é reutilizada (Hussein, 2012). Por isso, nos últimos anos tem aumentado o interesse na descontaminação, sobretudo na descoloração dos efluentes das indústrias têxteis. Os principais benefícios da descoloração destes efluentes podem incluir a reutilização do efluente tratado no mesmo tipo de indústria, ou noutras indústrias ou atividades que possam utilizar água de menor qualidade (Hussein, 2012). Além da cor também tem sido sublinhada a importância de avaliar a toxicidade das águas residuais das indústrias têxteis, uma vez que os métodos químicos por si só não fornecem informações suficientes acerca dos potenciais efeitos nocivos dos poluentes no meio ambiente e são incapazes de prever o efeito destes sobre os organismos no ecossistema (Sponza, 2006).

Os limites fixados para a descarga de efluentes da indústria têxtil encontram-se na Tabela 1.2. Os valores máximos admissíveis (VMA) estão definidos na Portaria nº 423/97, de 25 de Junho e os valores limite de emissão (VLE) no Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto.

Tabela 1.2 - Valores limites de emissão e valores máximos admissíveis para descarga das águas residuais do sector dos têxteis, excluindo o subsector dos lanifícios. Fonte: MESA, 1997 e MA, 1998.

Parâmetro	Valor limite de emissão (VLE)	Valor máximo admissível (VMA)
pH	6-9	5,5-9,0
CBO ₅	40 mg/l O ₂	100 mg/l O ₂
CQO	150 mg/l O ₂	250 mg/l O ₂
Cor	Não visível na diluição 1:20	-

O método analítico de referência, utilizado na determinação da cor na água é o método fotométrico com padrões de escala Pt-Co (Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto). O valor

paramétrico para a cor em águas para consumo humano é de 20 mg/L (escala Pt-Co) (DL nº 306/2007, de 27 de Agosto). Quanto à descarga de águas residuais, o Decreto-Lei nº236/98, de 1 de Agosto refere que o parâmetro cor não deve ser visível na diluição de 1:20 (Tabela 1.2).

Os decretos acima mencionados são os geralmente usados para a monitorização química de efluentes da indústria têxtil, contudo não contemplam efeitos de toxicidade aguda e crónica em organismos aquáticos, efeitos cumulativos no ecossistema, perdas de *habitat* e de biodiversidade e não preveem a análise de compostos químicos específicos. Neste sentido surgiu a Diretiva-Quadro da Água (DQA, Diretiva 2000/60/CE de 23 de Outubro de 2000), que prevê a análise da qualidade da água em função da caracterização das comunidades biológicas que nela habitam e não somente através de uma caracterização físico-química e microbiológica. Além disso defende a apresentação de propostas de medidas para o controlo da poluição causada pelas substâncias prioritárias e pelas substâncias prioritárias perigosas (CE, 2006). A DQA foi transposta para a ordem jurídica nacional através da Lei da Água, Lei nº 58/2005 de 29 de Dezembro (AR, 2005).

Segundo a DQA deve-se reduzir gradualmente a poluição causada pelas substâncias prioritárias e suprimir as descargas, emissões e perdas das substâncias perigosas prioritárias (CE, 2006). A lista das substâncias prioritárias e das substâncias prioritárias perigosas está apresentada na Decisão nº 2455/2001/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de Novembro de 2001 (CE, 2001) e no Decreto-Lei nº 103/2010 de 24 de Setembro (MAOT, 2010). A fim de regulamentar a descarga destas substâncias surgiu a Diretiva 2008/105/CE, de 16 de Dezembro de 2008, que deriva da DQA, e que estabelece normas de qualidade ambiental (NQA)³ para substâncias prioritárias e outros poluentes, a fim de alcançar um bom estado químico das águas de superfície interiores, das águas de transição, das águas costeiras e das águas subterrâneas (CE, 2008). A nível nacional, as normas de qualidade ambiental para as substâncias prioritárias e outros poluentes estão definidas na parte A do anexo III do Decreto-Lei nº 103/2010 de 24 de Setembro (MAOT, 2010). A DQA prevê o estabelecimento de um inventário de emissões, descargas e perdas de todas as substâncias prioritárias e de todos os poluentes mencionados na parte A do anexo I, da Diretiva 2008/105/CE, para cada região hidrográfica, incluindo, eventualmente, as respetivas concentrações nos sedimentos e na biota. Nesta lista de substâncias químicas prioritárias que têm que ser analisadas

³ Norma de qualidade ambiental (NQA)»: a concentração de um determinado poluente ou grupo de poluentes na água, nos sedimentos ou na biota que não deve ser ultrapassada para efeitos de proteção da saúde humana e do ambiente.(CE, 2008)

encontram-se algumas que são características dos efluentes das indústrias têxteis, como se verifica na Tabela 1.3, que compara os valores normalmente encontrados em efluentes brutos com os valores médios anuais que não devem ser ultrapassados (NQA-MA) e com a concentração máxima admissível para estas substâncias (NQA-CMA) nas águas de superfície. Apesar de algumas das substâncias apresentadas na Tabela 1.3. que normalmente fazem parte da composição deste efluente estarem abaixo das NQAs respetivas, substâncias como o níquel, o nonifenol (4-nonifenol), o cádmio, o chumbo e o éter difenílico bromado excedem os limites, o que justifica o tratamento destes efluentes antes da sua descarga em águas superficiais. Em ambos os casos, em que as NQAs são ou não excedidas, as descargas cumulativas podem contribuir para que de facto estes níveis sejam ultrapassados nos meios recetores.

Tabela 1.3 – Normas de qualidade ambiental (NQA) de substâncias prioritárias e de outros poluentes definidos pela Diretiva 2008/105/CE e a gama de valores encontrados em efluentes de indústria têxtil para estas substâncias (CITEVE, 2012).

Substância	Gama de valores (µg/l)	NQA-MA ⁽¹⁾ Águas de superfície interiores ⁽²⁾	NQA-MA ⁽¹⁾ Outras águas de superfície	NQA-CMA ⁽³⁾ Águas de superfície interiores ⁽²⁾	NQA-CMA ⁽³⁾ Outras águas de superfície
Benzeno	<1-10	10	8	50	50
Cádmio ⁽⁴⁾	1-100	≤0,08 (Classe 1) 0,08 (Classe 2) 0,09 (Classe 3) 0,15 (Classe 4) 0,25 (Classe 5)	0,2	≤0,45 (Classe 1) 0,45 (Classe 2) 0,6 (Classe 3) 0,9 (Classe 4) 1,5 (Classe 5)	≤0,45 (Classe 1) 0,45 (Classe 2) 0,6 (Classe 3) 0,9 (Classe 4) 1,5 (Classe 5)
Chumbo	5-300	7,2	7,2	Não aplicável	Não aplicável
Éteres difenilicos bromados	<0,01-5	0,0005	0,0002	Não aplicável	Não aplicável
Níquel	10-200	20	20	Não aplicável	Não aplicável
Nonifenol (4-Nonilfenol)	<0,3-8,70	0,3	0,3	2,0	2,0
Ftalato di(2-etil-hexilo) (DEHP)	<1,0-3,0	1,3	1,3	Não aplicável	Não aplicável
Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH):					
• Benzo(a)pireno	0,005	0,05	0,05	0,1	0,1
• Benzo(b)fluor-anteno	0,005-0,03	Σ=0,03	Σ=0,03	Não aplicável	Não aplicável
• Benzo(k)fluor-anteno	<0,005				
• Benzo(g,h,i)-perileno	0,005-0,03	Σ=0,002	Σ=0,002	Não aplicável	Não aplicável
• Indeno(1,2,3-cd)-pireno	<0,01				

(1) Norma de qualidade ambiental expressa em valor médio anual (NQA-MA)

(2) As águas de superfície interiores compreendem os rios e lagos e todas as massas de água artificiais ou fortemente modificadas com eles relacionadas.

(3) Norma de qualidade ambiental expressa em concentração máxima admissível (NQA-CMA).

(4) No caso do cádmio e compostos de cádmio, os valores NQA variam em função de cinco classes de dureza da água (Classe 1: < 40 mg CaCO₃/l, Classe 2: 40 a < 50 mg CaCO₃/l, Classe 3: 50 a < 100 mg CaCO₃/l, Classe 4: 100 a < 200 mg CaCO₃/l e Classe 5: ≥ 200 mg CaCO₃/l).

Nota: o “<” antes do valor significa que o valor obtido é inferior ao limite de quantificação ou deteção.

1.1.2. Impacto dos efluentes têxteis nos ecossistemas aquáticos

Ao longo dos últimos anos verificou-se um aumento da procura de produtos têxteis e proporcionalmente um aumento da descarga de águas residuais das indústrias têxteis, criando um problema de poluição em todo o mundo. Tal como já foi referido, os efluentes têxteis contêm substâncias químicas, incluindo corantes, que são substâncias tóxicas, cancerígenas, mutagénicas e teratogénicas para vários organismos aquáticos, incluindo diversas espécies de peixes (Sarayu e Sandhya, 2012). Além disso a descarga destes efluentes coloridos nos ecossistemas aquáticos cria problemas de eutroficação e perturbações na vida aquática (Sarayu e Sandhya, 2012).

Sharma et al. (2007) observaram em *Gambusia affinis*, exposta a diluições de amostras de diferentes etapas do processo de tingimento têxtil, um escurecimento do corpo e um aumento da secreção mucosa (mecanismo de defesa). Os investigadores verificaram que os corantes se depositaram nos órgãos externos (brânquias) e internos (linha lateral e sistema digestivo). Em concentrações mais elevadas, para todas as amostras, verificaram-se lesões nas brânquias e anomalias morfológicas nos eritrócitos (poiquilocitose). Sharma et al. (2007) também estudaram a resposta de *Lemna aequinoctialis* exposta a amostras de efluente têxtil e verificaram que as plantas se fragmentavam, ficando muitas delas apenas com uma fronde. Também observaram, dependendo da dose e do tempo, perda de raízes, frondes brancas, diminuição do tamanho e da espessura das frondes e acumulação de corante na sua superfície inferior e nas raízes. Tal facto demonstra que estes efluentes afetam diferentes níveis das cadeias tróficas dos meios aquáticos recetores. No entanto, a toxicidade do efluente depende largamente da etapa de processamento têxtil de onde provem. Tal facto foi demonstrado pelo estudo de Zhang et al. (2012), onde o efluente proveniente da etapa de branqueamento apresentou uma taxa de mortalidade para peixes-zebra de 100%, a uma concentração de apenas 20%. Comparativamente o efluente dos processos de tinturaria apresentou-se menos tóxico, causando 100% de mortalidade na concentração de 50% de efluente.

Tigini et al. (2011) simularam 4 efluentes dos processos de tingimento da indústria têxtil (W1-W4) e estudaram a sua toxicidade com uma série de ensaios ecotoxicológicos em organismos de diferentes níveis tróficos, como microrganismos, algas, plantas aquáticas, plantas terrestres e cladóceros. Os investigadores chegaram à conclusão que a microalga *P. subcapitata* foi o organismo mais afetado pelas simulações de efluentes têxteis, resultando numa significativa inibição do crescimento desta. Pelo contrário a

planta aquática *Lemna minor* não mostrou efeito no crescimento das frondes e no desenvolvimento da biomassa (Tigini *et al.*, 2011). Os cladóceros *Daphnia magna* quando expostos às diferentes simulações de efluente têxtil, com a exceção da simulação W2, apresentavam perda de mobilidade (W1: $EC_{50}(48h)=12,6\%$; W3: $EC_{50}(48h)=7,2\%$ e W4: $EC_{50}(48h)=74,4\%$).

1.2. Metodologias convencionais de tratamento de efluentes de indústrias têxteis e tratamentos alternativos já testados para estes efluentes.

Para se escolher uma metodologia de tratamento de efluentes têxteis adequada é preciso considerar vários fatores como a eficiência de tratamento, os custos do tratamento, a área disponível para a implementação do sistema de tratamento, o tipo e a concentração dos corantes utilizados pela indústria têxtil e o destino final do efluente tratado (Hussein, 2012). Devido à elevada complexidade e variabilidade destes efluentes não há um procedimento geral para o seu tratamento e uma simples tecnologia de tratamento não garante a remoção satisfatória de todos os poluentes (Hussein, 2012; Demmin e Urich, 1988). São usados principalmente três métodos para o tratamento de águas residuais da indústria têxtil: métodos físico-químicos, métodos de oxidação avançada e os métodos biológicos.

Os métodos físico-químicos baseiam-se no uso de agentes coagulantes, como sais de ferro e de alumínio, que agregam as substâncias em suspensão formando flocos (partículas maiores) para que possam ser separadas por filtração ou sedimentação. Por vezes, é também adicionado um polielectrólito, durante a fase de floculação, para melhorar/acelerar a sedimentação dos flocos. O método de coagulação-floculação é uma das metodologias mais usadas em sistemas de tratamento de efluentes da indústria têxtil em muitos países como a Alemanha e a França (Santos *et al.*, 2007). Marmagne e Coste (1996) aplicaram o método de coagulação-floculação com sucesso na remoção da coloração em soluções aquosas com corantes de enxofre e corantes dispersos. O mesmo tratamento demonstrou ser pouco eficaz no tratamento de soluções com corantes ácidos, diretos, reativos e de cuba. Além do problema da baixa eficiência de remoção de cor em alguns corantes, os métodos físico-químicos apresentam muitas desvantagens, como adição de grandes quantidades de produtos químicos e a consequente produção de elevados volumes de lamas poluídas, que têm que ser posteriormente tratadas (Robison *et al.*, 2001; Anjaneyulu *et al.*, 2005).

Como um método químico apresenta-se a oxidação química que envolve o uso de um agente oxidante, como o ozono (O_3), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e o permanganato (MnO_4), para a degradação indiferenciada de compostos orgânicos incluindo os corantes (Metcalf e Eddy, 2003). O ozono é o agente oxidante mais usado devido à sua elevada reatividade com muitos corantes, originando geralmente boas eficiências de remoção de cor (Alaton *et al.*, 2002). No entanto, os corantes dispersos e os insolúveis em água representam um inconveniente para o processo, bem como o elevado custo do ozono (Hassan e Hawkyard, 2002; Anjaneyulu *et al.*, 2005). Para ultrapassar limitações da técnica convencional de oxidação química, como a reduzida eficiência na remoção da cor e da CQO, foi desenvolvido o método de oxidação avançada (AOP), em que agentes oxidantes como o O_3 e o H_2O_2 são utilizados com catalisadores (Fe, Mn e TiO_2) quer na presença quer na ausência de uma fonte de irradiação (Anjaneyulu *et al.*, 2005). Posteriormente descobriu-se que a produção do radical livre hidroxilo pode representar um aumento significativo comparativamente a outros oxidantes na ausência de um catalisador (Ince e Tezcanli, 1999). Este método de oxidação avançada com produção do radical livre hidroxilo tem sido muito investigado para a remoção de cor. Por exemplo, a reação de *Fenton*, consiste na adição de peróxido de hidrogénio a uma solução ácida (pH 2-3) que contem iões Fe^{2+} :



Comparativamente à ozonização a reação de *Fenton* é relativamente barata e também apresenta uma elevada capacidade de diminuição de CQO e de remoção de cor, sendo que os principais inconvenientes são a elevada produção de lamas, devido à formação de flóculos, e a necessidade de diminuir o pH do efluente a tratar (Van der Zee, 2002; Robinson *et al.*, 2001). Hassan e Hawkyard (2002) referem que usar a ozonização como um pré-tratamento da reação de *Fenton* aumenta consideravelmente a remoção de cor e diminui a geração de lamas. Contudo, está provado para outros efluentes que este processo aumenta consideravelmente a toxicidade dos efluentes tratados, apesar de aparentemente melhorar as suas propriedades químicas (Pereira *et al.*, 2009).

A fotólise do peróxido de hidrogénio consiste em expor a água que contem H_2O_2 a luz UV, normalmente nos comprimentos de onda de 200-280 nm, formando-se radicais hidroxilo (OH^\cdot) (Metcalf e Eddy, 2003). Este método de oxidação avançada é o mais amplamente usado no tratamento de poluentes perigosos e refratários presentes nas águas residuais, principalmente porque não se formam lamas, e porque se consegue uma elevada remoção de CQO e de cor num curto tempo de retenção (Safarzadeh *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 1998). Uma descoloração maior que 95% foi referida para corantes reativos,

básicos, ácidos e diretos⁴ a pH 5, enquanto que para os corantes dispersos e de cuba a descoloração é apenas parcial (Yang *et al.*, 1998). Em alguns casos o processo de fotólise do peróxido de hidrogénio é pouco eficiente na remoção da CQO e da cor, podendo-se dever ao uso ineficiente da luz UV (principalmente para efluentes muito coloridos) ou então devido ao baixo coeficiente de extinção molar do H₂O₂, o que faz com que sejam necessários elevados níveis deste agente oxidante para garantir um nível de eficácia satisfatório (Alaton *et al.*, 2002; Moraes *et al.*, 2000). Os métodos baseados na luz UV e na presença de um catalisador como o TiO₂ apresentam claramente um aumento na remoção de cor (So *et al.*, 2002; Grzechulska e Morawski, 2002). Diferentes combinações como ozono/TiO₂, ozono/TiO₂/H₂O₂ e TiO₂/H₂O₂ têm sido estudadas, mas a eficiência de remoção depende sobretudo do tipo de corante, da concentração do corante e do pH (Galindo *et al.*, 2000).

A ultrafiltração, a nanofiltração e a técnica de osmose reversa são processos de separação por membrana, que permitem a reutilização da água e a recuperação dos compostos químicos. Estas técnicas podem ser usadas para o tratamento de efluentes ricos em corantes, assim como para efluentes resultantes dos processos de mercerização e de branqueamento. As principais limitações do método de tratamento através do uso de membranas são os elevados custos de investimento, a saturação (*fouling*) da membrana e a formação de um banho concentrado com corantes que necessita de ser tratado (Robinson *et al.*, 2001). A recuperação de substâncias químicas a partir das membranas, como por exemplo a recuperação do hidróxido de sódio usado na etapa de mercerização, pode acentuar os custos do tratamento (Santos *et al.*, 2007). O processo de osmose inversa pode ser utilizado eficazmente para reutilizar a água resultante da etapa da lavagem do processamento têxtil. Contudo para evitar a saturação das membranas é necessário um pré-tratamento de coagulação e de microfiltração a montante (Vandevivere *et al.*, 1998).

Um método que também tem sido muito estudado é a adsorção, que se baseia na afinidade dos poluentes por materiais adsorventes. A remoção de poluentes de soluções aquosas ou a descoloração por adsorção é influenciada por alguns fatores físico-químicos como interações entre o poluente/corante e o adsorvente, a área superficial do adsorvente, o tamanho das partículas, a temperatura, o pH e o tempo de contacto (Anjaneyulu *et al.*, 2005). O principal critério a ter em conta na seleção de um adsorvente é a elevada afinidade para os componentes-alvo e a possibilidade da regeneração do

⁴ Corantes Diretos - Este grupo de corantes caracteriza-se como compostos solúveis em água capazes de tingir fibras de celulose (algodão, viscose, etc.) através de interações de Van der Waals (Guarati e Zaroni, 2000).

adsorvente (Karcher *et al.*, 2001). O carvão ativado é o adsorvente mais utilizado e apresenta uma elevada eficiência para muitos corantes, contudo a eficiência está dependente do tipo de carvão ativado usado e do tipo de água residual a tratar, isto é, do tipo de corantes presentes. Contudo o carvão ativado é um material caro, difícil de regenerar com perdas de cerca de 10% no processo de regeneração térmica (Robinson *et al.*, 2001).

Os métodos de tratamento biológicos podem ser aeróbios, anaeróbios ou anóxicos, usando fungos, bactérias ou algas. A maioria destes sistemas são capazes de remover a CQO e a CBO₅, contudo são incapazes de remover eficazmente a cor dos efluentes (Banat *et al.*, 1997).

O tratamento através de fungos, nomeadamente o fungo da podridão branca, tem sido referenciado pela sua capacidade de degradar uma ampla gama de compostos recalcitrantes, como corantes sintéticos, através do uso de enzimas oxidativas extracelulares (Kaushik e Malik, 2009; Duarte *et al.*, 2013; Justino *et al.*, 2009). Contudo, os investigadores referem ser necessária mais pesquisa para estudar a toxicidade dos metabolitos de degradação do corante e o destino final da biomassa utilizada, de modo a garantir o desenvolvimento de uma tecnologia de tratamento ecologicamente sustentável (Kaushik e Malik, 2009). Anastasi *et al.* (2012) sugeriram a combinação de duas metodologias biológicas de tratamento em efluentes têxteis, o uso de fungos da podridão branca previamente selecionados e o uso de uma mistura de comunidades bacterianas. O primeiro para a descolorização do efluente e o segundo para a redução da CQO e da toxicidade (Anastasi *et al.*, 2012). O tratamento de efluentes têxteis através de algas tem sido destacado pela sua eficácia na remoção da cor (Lim *et al.*, 2010). O mecanismo envolvido neste tratamento é a bioissorção. A alga *Caulerpa scalpelliformis* (Aravindhan *et al.*, 2007) é capaz de remover corantes básicos por bioissorção. Lim *et al.* (2010) usaram a alga *Chlorella vulgaris* no tratamento de efluentes têxteis e obtiveram uma taxa de remoção de 50% de cor, 45,1% de azoto total, 33,3% de fósforo total e 62,3% no valor de CQO.

Todas as tecnologias de tratamento de efluentes têxteis têm as suas vantagens e limitações, não existindo um método perfeito. Na Tabela 1.4 estão resumidos os principais métodos de tratamento disponíveis assim como as suas vantagens e desvantagens. O tratamento por adsorção será o processo que irá ser descrito com maior detalhe, por ser aquele que mais se relaciona com o trabalho desenvolvido na presente dissertação.

Tabela 1.4 – Principais métodos de tratamento de efluentes têxteis, bem como as suas vantagens e limitações.

Tipo de Tratamento	Descrição do método	Área de eficiência e vantagens	Desvantagens	Referências
Biológico	Lamas ativadas, Sistemas de arejamento prolongado, Lagoas aeróbicas, Compostagem; Degradação com Fungos.	Elevada redução da CBO ₅ .	Elevados tempos de residência; pode ser necessária a adição de nutrientes; é necessária uma elevada área de implementação para os tanques de arejamento e para as lagoas; muitos compostos tóxicos não são removidos; a remoção de cor é variável.	Sarayu e Sandhya, 2012; Santos <i>et al.</i> , 2007; Banat <i>et al.</i> , 1997
Precipitação química	Adição – precipitação de cátions multivalentes (Al ⁺³ , Fe ⁺³ , Ca ⁺²) com ajuste de pH.	Metais pesados, sólidos suspensos.	A remoção da cor varia com a classe do corante e com o processo de tingimento, pouca informação na remoção da CBO ₅ e da CQO, adição de químicos pode ser um problema devido à formação de lamas.	Hao <i>et al.</i> , 2000; Santos <i>et al.</i> , 2007
Adsorção com carvão ativado	Passagem da água por um leito de carvão ativado.	CBO ₅ , CQO e cor Boa remoção de uma ampla variedade de corantes.	Investimento de capital elevado, elevados tempos de residência, regeneração frequente e cara.	Robison <i>et al.</i> , 2001; Santos <i>et al.</i> , 2007; Foo e Hameed, 2010
Filtração por membranas	Permeação de água sob pressão através de membranas poliméricas especializadas.	CBO ₅ , CQO e cor Remoção de todos os tipos de corantes.	Saturação (“Fouling”) das membranas; metais não são removidos; é necessária uma frequente limpeza e substituição das membranas.	Robison <i>et al.</i> , 2001; Santos <i>et al.</i> , 2007; Ellouze <i>et al.</i> , 2012
Ozonização	Reação de oxidação de compostos orgânicos usando ozono, gerado por descarga elétrica.	CBO ₅ , CQO e cor. Aplicado em estado gasoso, logo não altera o volume.	Investimento de capital elevado, metais e sólidos requerem um tratamento adicional Tempo de meia-vida curto (20 minutos).	Robison <i>et al.</i> , 2001; Santos <i>et al.</i> , 2007; Foo e Hameed, 2010

1.3 Adsorção

Adsorção é um fenómeno de superfície pelo qual uma substância é extraída de uma fase e concentrada na superfície de uma outra fase (Brito *et al*, 2010). A concentração ou acumulação de substâncias ocorre na interface sólido-líquido. O material que é adsorvido é designado de adsorbato, e a fase cuja superfície adsorve é designada de adsorvente (Brito *et al*, 2010).

O objetivo da adsorção, num sistema de tratamento de água para consumo humano ou uso industrial, é a remoção de poluentes, transferindo-os para um adsorvente sólido, ao qual ficam ligados por forças químicas ou físicas (Brito *et al*, 2010).

A técnica de adsorção tem provado ser um excelente método de tratamento de efluentes, oferecendo vantagens relativamente a outros métodos convencionais sobretudo devido aos baixos custos, à simplicidade do *design*, à disponibilidade e à capacidade para remover compostos indesejáveis mesmo em elevadas concentrações (Arami *et al*, 2006).

1.3.1. Tipos de adsorção

A adsorção física ocorre quando o mecanismo de ligação entre o adsorvente e o adsorbato envolve ligações/forças intermoleculares. As forças intermoleculares são atrações e repulsões entre as moléculas e são bastantes mais fracas que as forças intramoleculares, isto é, que as ligações covalentes e iónicas (Dantas e Ramalho, 2005). De entre as forças intermoleculares, a adsorção física envolve principalmente forças atrativas de *van der Waals* (forças de dispersão de London e as atrações dipolo-dipolo), que operam nos estados sólido, líquido e gasoso. A adsorção física ocorre predominantemente a baixas temperaturas, e é caracterizada por uma energia de adsorção baixa, por ser uma adsorção reversível e por atingir rapidamente o equilíbrio. A adsorção em carvão ativado é um caso típico de adsorção física, em que o adsorbato se deposita quer na superfície externa do sólido, quer no interior de um grande número de capilares que o constituem (Brito *et al.*, 2010).

Na adsorção química, há o estabelecimento de ligações químicas entre o adsorbato e a superfície do adsorvente, como as ligações covalentes e iónicas. Os processos de adsorção química têm elevadas energias de adsorção e são favorecidos por temperaturas elevadas. A adsorção química é considerada irreversível na maioria dos casos (Allen e Koumanova, 2005).

1.3.2. Modelos de equilíbrio

Num processo de remoção de poluentes por adsorção torna-se necessário estudar os mecanismos de ligação entre o poluentes e o adsorvente, a afinidade relativa entre os dois e como estes são afetados pelas variações das condições ambientais, para se conseguir implementar com sucesso um programa de remediação. O primeiro passo para atingir o objetivo é quantificar a capacidade de um determinado adsorvente para remover o adsorbato (poluente) a partir de uma solução aquosa (Davis *et al.*, 2003).

A quantificação da capacidade de adsorção ocorre quando se atinge o equilíbrio entre a concentração do adsorbato na interface e na solução (Brito *et al.*, 2010). O tempo necessário para a reação de adsorção atingir o equilíbrio é alcançado quando as concentrações de adsorbato na interface e na solução não sofrem mais alterações, com o decorrer do tempo de contacto (Volesky, 2007).

A reação de adsorção pode ser descrita relacionando a capacidade de adsorção (massa de soluto adsorvida por unidade de massa de adsorvente), com a concentração de equilíbrio do soluto (adsorbato) restante na solução. Esta relação é conhecida como isotérmica de adsorção. Há vários modelos de isotérmicas de adsorção, que incluem: Langmuir, Freundlich, BET, Temkin, Redlich-Peterson e Nerst. As duas primeiras isotérmicas são frequentemente usadas para os parâmetros de adsorção (Oke *et al.*, 2008).

1.3.2.1. Isotérmica de Langmuir

Segundo Davis *et al.* (2003), uma das representações mais simples da adsorção é a migração de um adsorbato (A) para um sítio de ligação (S) de um adsorvente, dando origem a um complexo (SA), como se verifica na equação seguinte.



A isotérmica de Langmuir baseia-se em três pressupostos: a adsorção máxima corresponde à saturação da monocamada de moléculas de adsorbato na superfície do adsorvente; todos os sítios de ligação do adsorvente são equivalentes, isto é, têm igual afinidade para o adsorbato, e podem acomodar no máximo um átomo adsorvido; e a capacidade de adsorção dos centros ativos é independente da presença ou ausência de espécies adsorvidas na sua vizinhança (Oke *et al.*, 2008; Ramos, 2008).

Assumindo os três pressupostos a equação teórica de Langmuir, desenvolvida em 1918, apresenta a seguinte forma:

$$q_e = \frac{q_{\max} b C_e}{(1 + b C_e)} \quad (\text{Eq.1.3})$$

onde q_e é a capacidade de adsorção (massa de soluto adsorvido dividida pela massa de adsorvente) (mg/g ou mmol/g), q_{\max} é a quantidade máxima de soluto adsorvido ao formar a camada completa (mg/g ou mmol/g), C_e é a concentração de soluto em equilíbrio na solução (mg/l ou mmol/l), e b corresponde à constante de adsorção, no equilíbrio, indicado a afinidade entre o adsorvente e o soluto adsorvido (Brito *et al.*, 2010).

Na figura 1.3 encontra-se representado um exemplo comparativo da eficácia de remoção de um determinado sorbato entre dois biossorventes. A eficácia de um biossorvente reflete-se em elevados valores de b e q_{\max} . Os valores de b são refletidos pelo declive inicial e indicam a afinidade do biossorvente para a adsorção (Davis *et al.*, 2003).

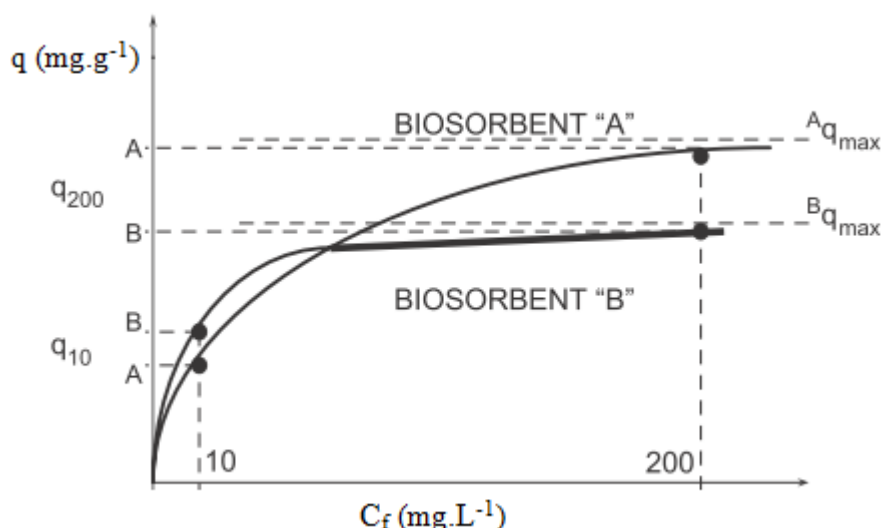


Figura 1.2 – Exemplo de curvas da isotérmica de Langmuir, em que se compara a eficácia entre o biossorvente A e o B na remoção de um único sorbato. Adaptado de Volesky, 2007.

Assim, pela análise do gráfico da figura 1.2, o biossorvente B tem melhor desempenho em baixas concentrações de equilíbrio, enquanto o biossorvente A apresenta uma melhor eficácia em concentrações de equilíbrio mais elevadas (Voleski, 2007).

1.3.2.2. Isotérmica de Freundlich

À semelhança do que acontece com a isotérmica de Langmuir, a extensão da adsorção/sorção também é determinada em função da concentração de equilíbrio do adsorbato (poluente) na solução, sem traduzir o efeito do pH ou a presença de outros iões. Esta isotérmica descreve a adsorção em superfícies heterogéneas, ou superfícies

com sítios de ligação com afinidades diferentes para o adsorbato, considerando que os sítios de ligação mais fortes são ocupados em primeiro lugar e que a força de ligação diminui com o aumento do grau de ocupação (Davis *et al.*, 2003).

A isotérmica de Freundlich, de 1906, é determinada pela seguinte equação (Farooq *et al.*, 2010):

$$q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}} \quad (\text{Eq.1.4})$$

onde q_e é a capacidade de adsorção (massa de soluto adsorvido dividida pela massa de adsorvente) (mg/g ou mmol/g), C_e é a concentração mássica de soluto em equilíbrio na solução (mg/l ou mmol/l) e K_F e n são constantes relacionadas com a capacidade e a intensidade de adsorção, respetivamente.

1.3.3. Fatores que afetam a capacidade de adsorção

Para a aplicação industrial de uma tecnologia de sorção para remoção de poluentes, é muito importante investigar a eficiência de remoção do sorvente para o poluente alvo.

A representação esquemática de um processo de adsorção em *batch* encontra-se ilustrada na figura 1.4. Os ensaios *batch* visam estudar os fatores que influenciam a adsorção, que são importantes na avaliação do potencial do sorvente na remoção do poluente (Vijayaraghavan e Yun, 2008).

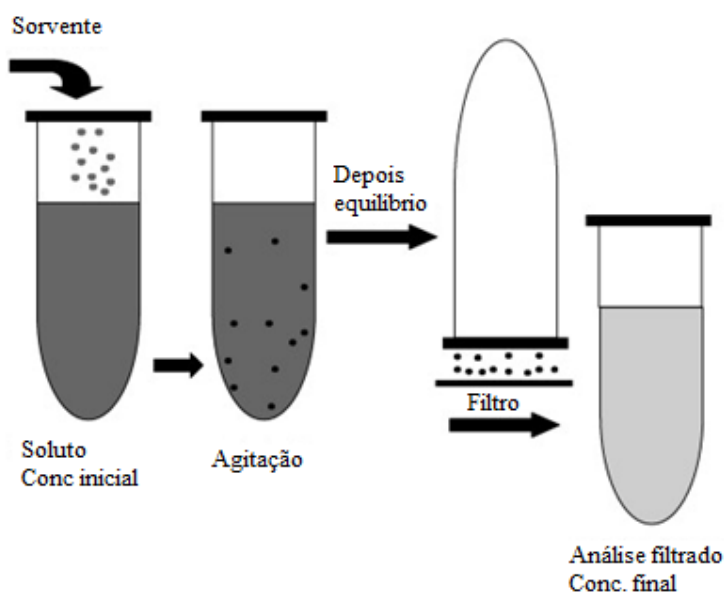


Figura 1.3 - Representação esquemática do procedimento experimental de uma adsorção em sistema batch. Adaptado: Vijayaraghavan e Yun, 2008.

1.3.3.1. pH

O controlo do pH no sistema é importante pois afeta tanto a configuração dos sítios de ligação do adsorvente, como o estado iónico do adsorbato na solução (Volesky, 2007).

Quando o adsorbato é um metal, o pH é um fator crucial na sua sorção, uma vez que afeta significativamente a química do metal, isto é, a especiação do metal, a hidrólise, a complexação por ligandos orgânicos e/ou inorgânicos, as reações *redox* e a precipitação (Acheampong *et al.*, 2010). A ligação entre os iões metálicos e o sorvente pode ser explicada pela atração eletrostática entre os catiões, positivamente carregados, e os sítios de ligação do sorvente, negativamente carregados (Prasher *et al.*, 2004). Para a maior parte dos catiões metálicos a adsorção aumenta com o aumento do pH, verificando-se o oposto quando o metal está presente sob a forma de anião. Diminuir o pH promove a competição pelos sítios de ligação entre protões e os iões metálicos carregados positivamente. Com o aumento do pH, a solubilidade dos complexos metálicos diminui (Naja e Volesky, 2009).

No caso da sorção de corantes, diferentes classes de corantes exigem diferentes faixas de pH. Corantes básicos exigem condições alcalinas ou neutras e corantes reativos exigem condições ácidas (Vijayaraghavan e Yun, 2008).

1.3.3.2. Temperatura

De acordo com os dados obtidos por Veglio e Benolchini (Veglio e Benolchini, 1997) a temperatura parece não influenciar a performance da bio-sorção, quando esta se encontra na faixa de 20 a 35°C. Temperaturas mais altas geralmente melhoram a sorção devido ao aumento da atividade na superfície e da energia cinética do soluto. No entanto, para temperaturas mais elevadas podem ocorrer danos físicos nos sítios de ligação do sorvente, sendo sempre desejável avaliar o desempenho da sorção em temperatura ambiente (Acheampong *et al.*, 2010), inclusivamente para minimizar o custo dos potenciais processos de tratamento.

1.3.3.3. Dimensão e dose de adsorvente

A dimensão do sorvente desempenha um papel importante na sorção. Uma maior área superficial favorece a sorção e diminui o tempo de equilíbrio. A dimensão do sorvente tem influência na área superficial, sendo que partículas de tamanhos menores têm uma maior área superficial (Vijayaraghavan e Yun, 2008). Partículas de dimensões mais pequenas são favoráveis para o processo em *batch*, no entanto, para o processo de coluna não são

favoráveis, devido à sua baixa resistência mecânica e entupimento da coluna (Park *et al.*, 2010). Um aumento da concentração do sorvente provoca diminuição da quantidade de poluentes sorvidos por unidade de massa de sorvente, aumentando, no entanto, a eficiência de remoção (Park *et al.*, 2010).

1.3.3.4. Concentração inicial de adsorbato

A concentração inicial de adsorbato pode alterar a eficiência de remoção de iões metálicos devido aos seguintes fatores: disponibilidade de grupos funcionais na área superficial e capacidade dos grupos funcionais da superfície para se ligar aos iões metálicos, especialmente em concentrações elevadas (Acheampong *et al.*, 2010). Segundo Arief *et al.* (2008), para um pH e temperatura ótimos e com a dose ideal de sorvente, a capacidade de equilíbrio de sorção melhora com o aumento da concentração inicial de sorbato. A remoção de iões é altamente dependente da concentração.

Um aumento da concentração do poluente aumenta a quantidade passível de ser sorvida por unidade de massa de sorvente, diminuindo, contudo, a eficiência de remoção (Park *et al.*, 2010).

1.3.3.5. Misturas de solutos

No tratamento de águas residuais, o material a adsorver em processo de sorção é muitas vezes composto por uma mistura de vários componentes em vez de um só soluto. Efluentes industriais frequentemente contêm iões, como por exemplo, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+} , para além de outros metais de maior toxicidade, que interferem na captação de iões de metais pelo sorvente (Acheampong *et al.*, 2010). Alguns iões inorgânicos, como o cloreto, podem formar complexos com os iões metálicos e, portanto, afetar o processo de sorção (Vijayaraghavan e Yun, 2008).

1.3.3.6. Velocidade de agitação

A velocidade de agitação influencia a adsorção. Com o aumento da velocidade de agitação há um aumento na remoção de poluentes, por minimizar a resistência de transferência de massa, contudo uma agitação muito violenta poderá causar danos na estrutura física do sorvente (Park *et al.*, 2010).

1.3.4. Adsorventes

Um adsorvente ideal deve ser um sólido, apresentar elevada área superficial, elevada porosidade e inércia, estabilidade para resistir a mudanças químicas, térmicas e

climáticas, apresentar uma boa relação custo-benefício, e possuir propriedades físico-químicas semelhantes às do carvão ativado comercial (Parande *et al.*, 2009).

Os adsorventes podem ser classificados em quatro categorias principais com base nas suas origens ou seja, resíduos agrícolas, subprodutos industriais, materiais naturais e carvão ativado sintético e comercial (Parande *et al.*, 2009).

1.3.4.1. Carvão ativado

O carvão ativado é normalmente preparado a partir de materiais com alto teor de carbono, como madeira lenhite, ossos, resíduos petrolíferos e cascas de noz, por elevação da temperatura até valores da ordem dos 300°C a 1000°C, sob atmosferas de CO₂, CO, O₂, vapor de água ou outros gases (Aksu, 2005; Brito *et al.*, 2010). A elevada capacidade de adsorção deriva dos grupos carbonilo e carboxilo existentes à superfície e da sua elevada área superficial (Brito *et al.*, 2010).

Com base no seu tamanho e forma, o carvão ativado é classificado em quatro tipos: em pó (PAC), granular (GAC), fibroso (ACF) e revestido (ACC) (Babel e Kurniawan, 2003). O carvão ativado granular, GAC, é o adsorvente mais usado que tem tido mais sucesso. Este suporte apresenta uma elevada área superficial, cerca de 1000 m²/g (Arami *et al.*, 2006).

Os principais problemas associados ao uso de carvão ativado para a adsorção de poluentes, num normal volume de água, são: os custos elevados para recuperação do adsorvente; dificuldade de regeneração e reutilização e o facto de estar praticamente limitado à remoção de materiais não-polares (Oke *et al.*, 2008).

1.3.4.2. Adsorventes de baixo custo

Devido aos problemas implícitos ao uso de carvão ativado como adsorvente para a remoção de poluentes, os investigadores têm testado a viabilidade da utilização de adsorventes de baixo custo, de fácil obtenção e biodegradáveis (Arami *et al.*, 2006). Materiais disponíveis localmente e em grandes quantidades, como materiais naturais (tais como, zeólitos, argila, diatomite, bentonite e caulinite), resíduos agrícolas (tais como, cascas de laranja, de noz, de arroz e de amêndoas) ou subprodutos industriais (tais como, cinzas e bagaço) podem ser usados como adsorventes de baixo custo (Kurniawan *et al.*, 2006).

De acordo com Bailey *et al.* (1999), um adsorvente é considerado de baixo custo quando requer pouco processamento, é abundante na natureza ou quando é um subproduto ou um resíduo resultante de atividades agrícolas ou industriais.

Os resíduos das indústrias florestais, tais como a serragem e as cascas, têm sido utilizados como adsorventes. Estes materiais estão disponíveis em grandes quantidades e podem ter potencial como adsorventes devido às suas características físico-químicas e de baixo custo. O serrim é um abundante subproduto da indústria da madeira, que é usado como combustível para cozinhar ou como material de embalagem. O serrim é facilmente adquirido no mercado a preço insignificante, associado apenas ao custo do transporte do local de armazenamento para o local onde será utilizado (Crini, 2006). Segundo Hamdaoui (Hamdaoui, 2006), o serrim provou ser um material eficaz na remoção de corantes de águas residuais. As cinzas são um subproduto industrial muito usado para sorção de corantes ou metais. As cinzas voláteis são resíduos que resultam de processos de combustão (Crini, 2006). Outros exemplos de adsorventes de baixo custo de origem industrial são os subprodutos da indústria da cortiça: o pó e os granulados de cortiça, que serão abordados mais especificamente no tópico que se segue.

1.4. Cortiça como adsorvente

A cortiça ou súber é a casca exterior do sobreiro (*Quercus suber* L.). Tem várias aplicações industriais, mas é sobretudo usada no fabrico de rolhas de vinho (Silva *et al.*, 2005). Portugal é o maior produtor de cortiça e o maior fabricante de produtos de cortiça (Gil, 1997). Uma das muitas aplicações da cortiça passa pelo tratamento de emissões gasosas, águas e efluentes (Pintor *et al.* 2012).

A cortiça é um recurso renovável, pois o sobreiro é a única árvore cuja casca se pode regenerar após a colheita, tornando a cortiça um verdadeiro material ecológico (Fernandes *et al.*, 2010).

As principais características físicas da cortiça são a elasticidade, a impermeabilidade e a baixa densidade. Quimicamente a cortiça é constituída por suberina (≈ 45 % (m/m)), uma mistura complexa de ácidos gordos e álcoois orgânicos, lignina (≈ 27 % (m/m)), e outros constituintes como os polissacarídeos (celulose e hemicelulose) (≈ 12 % (m/m)), lignina (≈ 27 % (m/m)), e alcanos. O conteúdo mineral é baixo (≈ 5 %), o elemento mais abundante é o cálcio (0,038-0,625 % (m/m)), seguido do fósforo, magnésio e alumínio. A proporção com que estes constituintes aparecem nas células da cortiça é variável, isto é,

depende de fatores como a qualidade da cortiça, que pode ser cortiça da primeira extração (cortiça virgem) ou cortiça das seguintes extrações (cortiça de reprodução), da origem geográfica e da localização morfológica no sobreiro (Chubar *et al.*, 2004; López-Mesas *et al.*, 2011; Pintor *et al.*, 2012). As propriedades físicas e o elevado teor de ácidos gordos são as características da cortiça apontadas pelos investigadores, que tornam os resíduos de cortiça promissores bioissorventes de metais (Chubar *et al.*, 2004; López-Mesas *et al.*, 2011).

Fatores como a área superficial, o volume e o diâmetro dos poros, a química da superfície da cortiça, o efeito dos tratamentos térmicos e o valor de pH ao qual o adsorvente tem carga nula (pH_{PZC}) são essenciais para perceber o funcionamento do processo de bioissorção pela cortiça.

A superfície da cortiça apresenta uma elevada afinidade para líquidos apolares e uma baixa polaridade, isto é, tem baixa capacidade de formar ligações intermoleculares. É anfotérica, ou seja, é compatível com os grupos funcionais poliméricos ácidos e básicos (Silva *et al.*, 2005).

Tratamentos térmicos à cortiça podem induzir uma decomposição térmica dos seus constituintes químicos e a transformação do material, sendo que até aos 150°C, as características são mantidas. A partir dos 150°C verifica-se a decomposição parcial da suberina, a decomposição dos pontos de fixação à parede celular, das ceras e de outros extrativos. Aos 200°C inicia-se a decomposição dos hidratos de carbono (Neto *et al.*, 1995). Entre 200-350°C há a expansão das células que provoca um aumento no volume celular em 100%, e as paredes são degradadas termoquimicamente, devido à perda de polissacarídeos aos 200°C e à degradação das hemiceluloses e dos hidratos de carbono entre os 180-360°C. Isto resulta num material de coloração preta e com 30% do peso inicial (Silva *et al.*, 2005). Um tratamento térmico a estas temperaturas provoca uma diminuição da massa e um aumento do volume, que diminui substancialmente a densidade em 50% (Pintor *et al.* 2012). Aos 350°C inicia-se a decomposição da lignina e a suberina é mais degradada. A partir dos 400°C verifica-se um domínio espectral de compostos aromáticos de carbono, pois o material agora é uma mistura de coque (formado pela decomposição da suberina a partir dos 250°C) e lignina (Neto *et al.*, 1995).

Segundo Domingues *et al.* (2005) a capacidade de adsorção de um material é avaliada pela concentração de iodo, medida da quantidade de iodo adsorvido (em mg) por 1g de adsorvente. Comparando os dois tipos de granulados (Tabela 1.5) verifica-se que a concentração de iodo diminui com o aumento do diâmetro das partículas. A concentração

de iodo obtido pela cortiça é consideravelmente mais baixa que a obtida pelo carvão ativado (Tabela 1.5). Esta diferença na capacidade de adsorção pode dever-se à dimensão dos poros na área superficial dos adsorventes, pois o carvão ativado possui microporos e a cortiça macroporos (diâmetro superior a 50 nm). Como a concentração de iodo diminui com o diâmetro das partículas da cortiça é provável que a área superficial disponível para sorção da cortiça seja apenas exterior, sendo provável que o volume no interior da cortiça seja inútil para a adsorção (Domingues *et al.*, 2005). Pelo contrário, o carvão ativado permite o acesso dos líquidos (e gases) ao seu interior. A cortiça, por sua vez, apesar de pouco densa ($0,18 \text{ g/cm}^3$) e igualmente porosa, é impermeável não permitindo o acesso do adsorbato ao seu espaço interno (Domingues, 2005).

Domingues (2005) mediu a área superficial, a densidade, o volume e o diâmetros dos poros dos granulados de cortiça por porosimetria de mercúrio e verificou que o carvão ativado tem uma área superficial ($>650 \text{ m}^2/\text{g}$) muito superior aos granulados de cortiça, comprovando a existência de microporos. A área superficial e o volume dos poros são superiores nos granulados de cortiça de diâmetros mais baixos (1-2 mm) (Tabela 1.5). Quanto à densidade não se verificou alteração com a diferença de granulometria. O diâmetro dos poros variou entre 1,02 e 1,34 μm , o que indica a presença de macroporos (Domingues, 2005).

Tabela 1.5 – Características dos granulados de cortiça e do carvão ativado obtidas por porosimetria de mercúrio e o número de iodo (Domingues *et al.* 2005; Domingues, 2005; Brito *et al.*, 2010)

Adsorventes	Concentração de iodo (mg/g)	Área superficial total (m^2/g)	Densidade real (g/cm^3)	Diâmetro dos poros (μm)	Volume dos poros (cm^3/g)
Cortiça (1-2 mm)	$83,9 \pm 0,7$	16,3	0,18	1,02	2,83
Cortiça (3-4 mm)	$33,6 \pm 0,5$	10,7	0,18	1,34	2,24
Carvão ativado (GAC)	$607 \pm 0,1$	>650	-	-	-

O pH no ponto de carga zero (pHpzc) da cortiça é 3,5, o que significa que em soluções com pH superior, a superfície da cortiça está carregada negativamente e em soluções com pH inferior ao pHpzc a superfície está carregada positivamente, podendo interagir com moléculas com carga negativa (Olivella *et al.* 2011). Assim, em soluções com pH de 3,5 a cortiça não apresenta carga superficial.

De acordo com o modelo empírico BET (Brunauer, Emmet e Teller) a água é adsorvida pela cortiça de duas maneiras (Pintor *et al.*, 2012). A primeira é a adsorção em monocamada, isto é, as moléculas de água fixam-se diretamente nos sítios de adsorção principais, como grupos hidroxilo. A segunda forma é a adsorção em multicamadas, as moléculas de água fixam em camadas secundárias ou subsequentes com uma energia de ligação inferior. Recentemente uma explicação mais adequada do mecanismo de adsorção pela cortiça foi dada por Lequin *et al.* (2010), em que primeiramente a água forma agregados nos locais hidrofílicos da superfície e seguidamente a água difunde para dentro da parede das células, provocando um inchaço do material (Pintor *et al.*, 2012).

Os metais são os poluentes mais testados na biossorção por cortiça, incluindo o cobre (Chubar *et al.*, 2003; Villaescusa *et al.*, 2002), o níquel (Chubar *et al.*, 2003; Villaescusa *et al.*, 2002), o zinco (Chubar *et al.*, 2003), o crómio trivalente (Machado *et al.*, 2002) o crómio hexavalente (Fiol *et al.*, 2003), o chumbo (Mota *et al.*, 2004; López-Mesas *et al.*, 2011) e o cádmio (López-Mesas *et al.*, 2011). Estes estudos têm apontado para a eficiência da cortiça na remoção de metais mas em baixas concentrações (Tabela 1.6). O aumento da concentração do metal gera uma diminuição na capacidade máxima de adsorção. Os resultados destes estudos (Tabela 1.6) mostraram que a cortiça é um promissor adsorvente para a remoção de metais, comparativamente com o carvão ativado, que é mais caro, e com técnicas como a osmose reversa e a precipitação química, que não são eficientes (Fiol *et al.*, 2003; Villaescusa *et al.*, 2002). Com o carvão ativado Sulaymon *et al.* (2009) obtiveram valores de capacidade máxima de adsorção de 13,3; 5,8 e 2,7 mg/g para o Pb(II), o Cu(II) e o Cr(III), enquanto que para a cortiça obtiveram valores de 13,6; 20 e 6,3 mg/g, respetivamente (Chubar *et al.*, 2003; Fiol *et al.*, 2003; López-Mesas *et al.*, 2011).

A maioria dos estudos de biossorção de metais pela cortiça apresenta isotérmicas com um bom ajustamento ao modelo de Langmuir (Chubar *et al.*, 2003; Fiol *et al.*, 2003; Machado *et al.*, 2002; Mota *et al.*, 2006; Villaescusa *et al.*, 2000). A Tabela 1.6 apresenta os valores de capacidade máxima de adsorção da cortiça, resultantes de ajustamentos ao modelo de Langmuir, referidos na literatura.

Tabela 1.6 – Capacidade máxima de adsorção (mg/g) de metais pela cortiça.

Poluente	Capacidade máxima de adsorção em monocamada (mg/g)	Diâmetros dos granulados de cortiça (mm)	Concentração de adsorbato	pH ótimo	Referência
Cu(II)	20	0,5-1	2g/l	5	Chubar <i>et al.</i> , 2003
	2,96	0.425-0.85	10g/l	6-7	Villaescusa <i>et al.</i> , 2002
Ni(II)	10	0,5-1	2g/l	5	Chubar <i>et al.</i> , 2003
	4,10	0,425-0,85	10g/l	6-7	Villaescusa <i>et al.</i> , 2002
Zn(II)	25	0,5-1	2g/l	5	Chubar <i>et al.</i> , 2003
Cr(III)	6,3	0,200-0,355	2g/l	4	Machado <i>et al.</i> , 2002
Cr(VI)	17	1-1,5	6,7g/l	2,0-4,7	Fiol <i>et al.</i> , 2003
Pb(II)	5,3	1-2	20g/l	3-3,5	Mota <i>et al.</i> , 2004
	13,6	0,5-1	2g/l	5	López-Mesas <i>et al.</i> , 2011
Cd(II)	2,4	0,5-1	2g/l	5	López-Mesas <i>et al.</i> , 2011

1.4.1. Cortiça e suas potencialidades na adsorção de compostos orgânicos

A cinética de bioadsorção de poluentes orgânicos pela cortiça apresenta uma curvatura inicial convexa, o que indica que a percentagem de adsorção diminui ao longo do tempo de contacto. Esta diminuição deve-se à dificuldade do adsorbato em encontrar sítios de adsorção disponíveis, pois os principais sítios já estão ocupados (Domingos *et al.*, 2005). Realmente o tempo de equilíbrio para adsorção de poluentes orgânicos pela cortiça varia entre 20 e 48 horas, tempo com difícil aplicabilidade a nível industrial (Pintor *et al.*, 2012).

A interação da cortiça com poluentes orgânicos é essencialmente hidrofóbica e deve-se à sua estrutura, especialmente aos domínios aromáticos da suberina e da lignina. Por ser hidrofóbica, a cortiça tem uma vantagem de afinidade em relação a outros bioadsorventes para a remoção de poluentes orgânicos, na medida em que as regiões hidrofóbicas em suberina e lignina provocam um aumento na capacidade de difusão de compostos hidrofóbicos para a cortiça (Pintor *et al.*, 2012).

O pó e os granulados de cortiça já são comercializados para a absorção de óleo, sendo que a cortiça pode absorver até 10 vezes o seu próprio peso em óleo e o processo de sorção é muito rápido (atinge o equilíbrio em, aproximadamente, 15 segundos). A taxa de sorção é dependente da granulometria, aumentando com a sua diminuição (Corticeira Amorim, 2009; Pintor *et al.*, 2012).

Segundo Pintor *et al.* (2012) os poluentes orgânicos em concentrações residuais são removidos com sucesso pela cortiça, contudo ainda existem poucos estudos que de facto o comprovem. Não existem igualmente estudos publicados que reportem o tratamento de efluentes têxteis pela cortiça.

1.5. Nanotecnologia

A nanotecnologia promete melhorar diversas áreas, como, tecnologias de produção, eletrónicas, telecomunicações, saúde e até mesmo remediação do ambiente (Kim *et al.*, 2005; Moore, 2006). A nanotecnologia envolve a produção e a utilização de nanomateriais (NMs)/nanopartículas (NPs), que são estruturas e dispositivos com dimensões que variam entre 1 a 100 nm, em pelo menos uma das suas dimensões (CE, 2011) e que exibem propriedades únicas que não podem ser encontradas na maioria dos materiais (Wang *et al.*, 2010). As nanopartículas mais estudadas são as baseadas em carbono (Mauter e Elimelech, 2008; Upadhyayula *et al.*, 2009) e as baseadas em óxido de titânio (TiO₂) (Khan *et al.*, 2002; Shankar *et al.*, 2009).

1.5.1. Uso de nanopartículas de dióxido de titânio no tratamento de águas residuais

O dióxido de titânio (TiO₂) existe em três formas cristalinas, a anatase, o rutilo e a brookita (Wold, 1993). A brookita não pode ser usada industrialmente devido à baixa estabilidade à temperatura ambiente, sendo extremamente difícil de sintetizar em laboratório, ao contrário da anatase e do rutilo que podem ser facilmente preparados (Wold, 1993).

O dióxido de titânio é um dos pigmentos inorgânicos mais importantes e mais utilizados na indústria farmacêutica, cosmética e alimentar, porque não são tóxicos, não são metabolizados e são neutros para o corpo humano (Siwińska *et al.*, 2009). Nos últimos anos, tem sido usado como material para implantes ortopédicos. O dióxido de titânio (TiO₂) tem um elevado potencial para aplicações ambientais pois é física e quimicamente estável, de baixo custo, não é tóxico e é resistente à corrosão (Hung *et al.*, 2007). Devido

a estas características tem sido usado para o tratamento de águas residuais (Li *et al.*, 2003).

Nanopartículas de dióxido de titânio (320mg/l TiO_2) foram usadas para a remoção de chumbo (Pb^{2+}) de uma solução aquosa com 95 mg/l de Pb^{2+} , e após 24 horas de adsorção atingiu-se uma percentagem de remoção de 49% e uma capacidade de adsorção no equilíbrio de 153,24 mg Pb^{2+} /g TiO_2 (Recillas *et al.*, 2011). As NPs de TiO_2 removeram Pb^{2+} até uma concentração de 3,4 mg/l (Recillas *et al.*, 2011). Neste estudo, Recillas *et al.* (2011) avaliaram também a toxicidade das NPs de TiO_2 nas diferentes etapas do processo de adsorção: inicialmente apenas da suspensão das NPs de TiO_2 , das NPs após adsorção de chumbo e do sobrenadante após centrifugação, para separação das NPs. A toxicidade foi avaliada através de um ensaio de germinação de sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum*), de alface (*Lactuca sativa*), de pepino (*Cucumis sativus*) e no ensaio de Microtox® de inibição de bioluminescência da bactéria *Vibrio fischeri*. Estes autores verificaram assim que as NPs de TiO_2 , nas 3 etapas do processo de adsorção, não exibem qualquer toxicidade, podendo ser usadas como adsorventes (Recillas *et al.*, 2011). Além disso as NPs de TiO_2 inibem a toxicidade do chumbo relativamente ao ensaio de toxicidade de Microtox®, pois o chumbo apresenta uma elevada toxicidade e as NPs com chumbo adsorvido não apresentaram efeito tóxico (Recillas *et al.*, 2011).

Noutro estudo de Liang *et al.* (2004) NPs de TiO_2 (diâmetro=10-50 nm e área superficial BET= 208 m^2/g) mostraram uma capacidade de adsorção de 15,3 e 7,9 mg/g para o zinco e para o cádmio, respetivamente, a um pH de 9. Segundo Engates e Shipley (2011) as NPs de TiO_2 têm uma capacidade de adsorção superior a outras NPs metálicas e ao próprio carvão ativado comercial, por comparação dos coeficientes de distribuição (K_d). Além disso, estas NPs demonstraram ser capazes de remover simultaneamente múltiplos metais (Zn, Cd, Pb, Ni, Cu) de uma solução com pH 8 (Engates e Shipley, 2011). Estes estudos mostram assim a elevada capacidade de adsorção de metais das NPs de TiO_2 .

Para o tratamento de efluentes têxteis com nanopartículas de dióxido de titânio, Gebrati *et al.* (2010) usaram o método de degradação fotocatalítica e obtiveram uma remoção da CQO e de descoloração do efluente, de 53% e 89%, respetivamente, após 90 minutos de reação, a pH 4, com 1,5 g/l de TiO_2 . Após o tratamento por oxidação fotocatalítica, os investigadores reportaram uma redução de toxicidade no ensaio de imobilização em *Daphnia magna*, sendo que o Cl_{50} aumentou de 3,8 para 22,8% (Gebrati *et al.*, 2010).

Relativamente à capacidade de adsorção das nanopartículas de dióxido de titânio em efluentes têxteis não existem ainda estudos disponíveis, daí a importância deste estudo.

Apenas existem estudos para corantes específicos, como o estudo de Barakat *et al.* (2011) em que foi avaliada a eficiência de remoção do corante, o “Procion yellow H-EXL”, com NPs de TiO₂ através do processo de adsorção e do processo de degradação fotocatalítica, na presença de iluminação UV. A percentagem de remoção do corante foi de 46,4 e de 100% por adsorção e por degradação fotocatalítica, respetivamente (Barakat *et al.*, 2011).

1.6. Importância da avaliação ecotoxicológica de efluentes

A importância de avaliar a ecotoxicidade de águas residuais tem sido realçada, pois os métodos químicos por si só não fornecem informações suficientes acerca dos potenciais efeitos nocivos dos poluentes no meio ambiente e são incapazes de prever o efeito destes sobre os organismos no ecossistema (Daniel *et al.*, 2004; Latif e Lick, 2004; Sponza, 2006).

A toxicidade das águas residuais e o seu impacto no meio recetor não pode ser previsto a partir da toxicidade de cada constituinte individualmente, pois esta abordagem não deteta os efeitos combinados de todas as espécies químicas e seus potenciais efeitos sinérgicos. Deste modo, a toxicidade de duas ou mais espécies químicas presentes em simultâneo, na água residual não é sempre igual à soma das suas respetivas toxicidades. O impacto total dos poluentes só pode ser detetado através da análise de amostras de efluentes industriais como um todo (Daniel *et al.*, 2004).

Análises ecotoxicológicas às águas residuais, antes da sua introdução no processo de biodegradação, pode ser útil para prever o seu impacto nas lamas ativadas e a necessidade de tratamentos adicionais. Uma vez que um nível elevado de toxicidade das mesmas pode pôr em causa o próprio biota das lamas, reduzindo a eficácia do tratamento. Além disso, a monitorização contínua da toxicidade dos efluentes, antes da sua descarga no meio ambiente, é fundamental para avaliar a eficácia dos sistemas de tratamento de águas residuais (Cordova Rosa *et al.*, 2001; Soupiras *et al.*, 2008) e para garantir de forma mais efetiva a proteção dos meios recetores.

Contudo, os bioensaio são uma representação irrealista de um ecossistema através de um único organismo. De facto, é difícil prever o impacto sobre outras espécies pois têm sensibilidades diferentes para o mesmo poluente. Assim é recomendada a aplicação de uma bateria de testes com organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos e com uma vasta gama de sensibilidades (Latif e Lick, 2004; Novotný *et al.*, 2006; Sponza, 2006; Soupiras *et al.*, 2008).

1.6.1. Organismos mais utilizados em ensaios de toxicidade de água doce

Um organismo teste ideal apresentaria uma elevada sensibilidade para todos ou para a maioria dos compostos químicos. No entanto, o efeito tóxico de um efluente sobre um organismo de uma dada espécie não pode ser extrapolado para outras espécies, pois apresentam diferentes sensibilidades. Assim, para uma correta avaliação da toxicidade de um efluente usa-se uma série de ensaios com organismos representantes de diferentes níveis tróficos.

1.6.1.1. Algas

As algas representam os produtores primários dos ecossistemas aquáticos. A alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* (anteriormente denominada *Selenastrum capricornutum*) é conhecida por ser muito sensível em ambientes aquáticos contaminados, sendo recomendada pela OCDE como organismo teste em ensaios de ecotoxicologia (OCDE: 201, 2006). Esta espécie tem um DNA simples e apresenta uma taxa de crescimento elevada, com um tempo de duplicação de aproximadamente 18 horas (Vannin *et al.*, 2011) o que a torna uma espécie vantajosa para uma avaliação rápida da resposta a concentrações sub-letais de efluentes.

1.6.1.2. Plantas superiores

Um dos ensaios mais utilizados para as plantas superiores é o ensaio com *Lemna*, em que são utilizadas espécies do género *Lemna*, como organismo de teste, sendo que no protocolo padronizado 221 da OCDE (2006), está descrito o método do teste de inibição de crescimento com *Lemna* sp.. As espécies do género *Lemna* são macrófitas aquáticas flutuantes monocotiledóneas da família das *Lemnaceae*, comumente denominadas lentilhas-de-água (Radic *et al.*, 2011; Radić *et al.*, 2010; Scherr *et al.*, 2008). As espécies de *Lemna* spp. reproduzem-se quase exclusivamente de forma assexuada. Embora a maioria das espécies de *Lemna* sejam utilizadas em ecotoxicologia, *Lemna minor* e *L. gibba* são as mais frequentemente utilizadas (OECD, 2006).

Uma das principais razões do uso da *Lemna* sp. em ensaios de ecotoxicologia deve-se à sua capacidade de acumular seletivamente determinadas substâncias químicas. Outra razão tem a ver com as propriedades fisiológicas destas plantas aquáticas, como o reduzido tamanho, a capacidade de crescimento rápido a valores de pH entre 5 e 9, e a sua propagação vegetativa (Radić *et al.*, 2010). Radić *et al.* (2010) afirmam que *Lemna minor* pode ser usada na biomonitorização de efluentes industriais, municipais e agrícolas

devido à sua simplicidade, sensibilidade e à boa relação custo-benefício dos ensaios com esta espécie.

1.6.1.3. *Cladóceros*

O cladóceros *Daphnia magna* Straus é o organismo teste usado com maior frequência em ecotoxicologia aquática, tanto a nível de toxicidade aguda como crónica (Baird *et al.*, 1989). *Daphnia magna* é considerada um organismo modelo em ecotoxicologia por diversas razões nomeadamente: a simplicidade da manutenção laboratorial de culturas; a sua capacidade de reprodução partenogenética, o que permite que os ensaios sejam realizados em clones de sensibilidade semelhante; o seu ciclo de vida curto com elevada fecundidade e o facto de ser um elemento representativo da comunidade zooplancónica de sistemas lênticos, a qual possui um papel chave nas cadeias tróficas destes sistemas. É ainda uma espécie com uma larga distribuição geográfica logo a relevância ecológica dos resultados dos testes é reconhecida; e é relativamente sensível comparando com outros invertebrados de água doce (Mark e Solbé, 1998; Koivisto, 1995).

Daphnia magna é um organismo pertencente à ordem Cladocera, comumente conhecida por *pulga-de-água*. As espécies de *Daphnia* são organismos filtradores, que se alimentam de bactérias, algas e protozoários. *Daphnia magna* tem a capacidade de filtrar partículas de pequenas dimensões, que variam de 0,24-0,64 µm (Michels e Meester, 1998).

Segundo Martins *et al.* (2007) os ensaios agudos de toxicidade com *D. magna* (OCDE 202, 2004) apresentam uma elevada sensibilidade para uma grande variedade de substâncias químicas.

No entanto, a mortalidade pode não ser o parâmetro mais sensível a usar, uma vez que as concentrações ambientais geralmente não são letais mas podem provocar efeitos subletais, que a longo prazo podem comprometer igualmente a viabilidade das populações naturais, e a sustentabilidade dos ecossistemas. Assim, um parâmetro subletal que tem sido usado para bioensaios com *Daphnia* sp. é a inibição alimentar. A inibição alimentar pode ser detetada em menos de 90 minutos e é um indicador rápido, sensível e ecologicamente relevante de *stress* tóxico em *Daphnia* sp., em substituição dos ensaios de reprodução que, ainda que igualmente sensíveis, geralmente nunca duram menos de 21 dias. O comportamento alimentar das espécies de *Daphnia* é importante, tanto a nível individual como a nível da população, porque a aquisição e a alocação de energia determina a taxa de desenvolvimento, a fecundidade e a

sobrevivência, que são componentes importantes de aptidão e determinantes da estrutura e dinâmica populacional (McWilliam e Baird, 2002).

1.6.1.4. Bactérias

Os ensaios toxicológicos com bactérias apresentam uma elevada relevância ecológica, pois estes são membros importantes de quase todos os ecossistemas. Além disso são rápidos, eficazes e reprodutíveis, ao contrário dos testes toxicológicos mencionados a seguir, que requerem um elevado tempo de exposição e elevados volumes de amostra. Um exemplo é o teste de toxicidade microbiano, Microtox® (Phyu *et al.*, 2005). O teste de Microtox® usa a bactéria marinha luminescente *Vibrio fischeri* (anteriormente denominada *Photobacterium phosphoreum*) e o efeito subletal avaliado é a inibição da bioluminescência, uma vez que a luminescência é diretamente proporcional à atividade metabólica da população bacteriana. Assim, qualquer inibição da atividade enzimática provoca uma diminuição na bioluminescência (Parvez *et al.*, 2006).

A reação de bioluminescência dessas bactérias é catalisada pela enzima luciferase. A enzima luciferase catalisa a oxidação de um mononucleótido de flavina reduzido (FMNH₂) e um aldeído alifático de cadeia longa, tal como o dodecanal, com o oxigénio molecular [FMNH₂ + RCHO + O₂ → FMN + RCOOH + H₂O + luz (490 nm)]. A produção de FMNH₂ depende de um sistema de transporte de eletrões funcionais, em que apenas as células viáveis produzirão luz (Billard e DuBow, 1998).

Apesar do teste Microtox® ser simples, rápido e facilmente reprodutível, usa uma bactéria marinha de pouco significado ecológico, sendo por este motivo aconselhável juntamente com uma série de testes toxicológicos com organismos testes de diferentes níveis tróficos (Parvez *et al.*, 2006).

1.7. Objetivos e estrutura da tese

Esta tese teve como principal objetivo avaliar a eficácia da cortiça e de nanopartículas de dióxido de titânio, mistura de rutilo e anatase, (tamanho das partículas <100nm; Sigma-Aldrich) na remoção da toxicidade e da cor de efluentes da indústria têxtil. Para tal foi necessário:

- Avaliar a toxicidade de amostras de efluente têxtil bruto e de efluente têxtil tratado, que foram fornecidos por uma indústria têxtil da região do centro de Portugal, usando o ensaio agudo de imobilização com *Daphnia magna*, o ensaio subletal de inibição da

alimentação com *D. magna*, o ensaio de inibição de crescimento com *Lemna minor* e o ensaio de Microtox de inibição de bioluminescência com *Vibrio fischeri*.

- Avaliar a eficácia da cortiça na redução da cor, da condutividade, de CQO e da toxicidade do efluente têxtil bruto, através de ensaios de adsorção em sistema *batch*.

- Avaliar a eficácia de nanopartículas de dióxido de titânio na redução da cor, da CQO e da toxicidade do efluente têxtil bruto, através de ensaios de adsorção em sistema *batch*.

Para cumprir estes objetivos a tese está organizada em 3 capítulos:

- ✓ **Capítulo 1 – Introdução** – capítulo atual, onde é apresentada uma revisão bibliográfica acerca da problemática dos efluentes das indústrias têxteis e dos métodos de tratamento existentes, assim como as suas vantagens e limitações. Além disso apresentam-se duas alternativas de tratamento com base no processo de adsorção, usando um resíduo industrial, a cortiça, e nanopartículas de dióxido de titânio. Também é referida a importância da ecotoxicologia para a avaliação dos efluentes. Finalmente são apresentados os objetivos do trabalho e a estrutura da tese.
- ✓ **Capítulo 2 – Avaliação da toxicidade e caracterização físico-química de efluentes da indústria têxtil** – apresenta a metodologia, os resultados e a discussão dos ensaios de toxicidade realizados às amostras de efluente têxtil bruto e tratado, que foram fornecidos pela indústria têxtil, assim como a sua caracterização físico-química.
- ✓ **Capítulo 3 – Tratamento de efluente têxtil através de adsorção com cortiça e com nanopartículas de dióxido de titânio** – onde é descrita a metodologia, os resultados e a discussão dos ensaios de adsorção com dois granulados de cortiça, gentilmente cedidos pela Corticeira Amorim, e com nanopartículas de dióxido de titânio. Estes dois adsorventes foram aplicados com o objetivo de remover a cor, a condutividade, a CQO e a toxicidade da amostra de efluente têxtil.

1.8. Referências Bibliográficas

- Acheampong, M.A., Meulepas, R.J.W., Lens, P.N.L. (2010). Removal of heavy metals and cyanide from gold mine wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 85 (5), 590-613.
- Aksu, Z. (2005). Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochemistry* 40, 997-1026.

- Alaton, I.A., Balcioglu, I.A., Bahnemann, D.W. (2002). Advanced oxidation of a reactive dyebath effluent: comparison of O₃, H₂O₂/UV-C and TiO₂/UV-A processes. *Water Research* 36, 1143–1154.
- Allen, S.J., Koumanova, B. (2005). Decolourisation of water/wastewater using adsorption (review). *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 40, 175–192.
- Anastasi, A., Spina, F., Romagnolo, A., Tigini, V., Prigione, V., Varese, G.C. (2012). Integrated fungal biomass and activated sludge treatment for textile wastewaters bioremediation. *Bioresource Technology* 123, 106–111.
- Anjaneyulu, Y., Sreedhara Chary, N., e Samuel Suman Raj, D. (2005). Decolourization of Industrial Effluents – Available Methods and Emerging Technologies – A Review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 4(4), 245–273.
- AR, Assembleia da República (2005). Lei nº 58/2005 de 29 de Dezembro. *Diário da República*, I Série – A, nº 249, 7280-7310.
- Arami, M., Limaee, N.Y., Mahmoodi, N.M. (2006). Investigation on the adsorption capability of egg shell membrane towards model textile dyes. *Chemosphere* 65, 1999–2008.
- Aravindhnan, R., Rao, J.R., Nair, B.U. (2007). Removal of basic yellow dye from aqueous solution by sorption on green alga *Caulerpa scalpelliformis*. *Journal of Hazardous Materials* 142, 68–76.
- Arief, V.O., Trilestari, K., Sunarso, J., Indraswati, N., Ismadji, S., (2008). Recent progress on biosorption of heavy metals from liquids using low cost biosorbents: characterization, biosorption parameters and mechanism studies. *Clean* 36, 937–962.
- Babel, T., Kurniawan, T.A. (2003). Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review. *Journal of Hazardous Materials* B97, 219–243.
- Bailey, S.E., Olin, T.J., Bricka, R.M., Adrian, D.D. (1999). A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. *Water Research* 33 (11), 2469–2479.
- Baird, D.J., Barber, I., Bradley, M., Calow, P., Soares, A. (1989). The Daphnia bioassay: a critique. *Hydrobiologia* 188/189, 403–406.
- Banat, I. M., Nigam, P., Singh, D., e Marchant, R. (1997). Microbial decolorization of textile-dyecontaining effluents: a review. *Bioresource Technology* 58, 217–227.
- Barakat, M. A. (2011). Adsorption and photodegradation of Procion yellow H-EXL dye in textile wastewater over TiO₂ suspension. *Journal of Hydro-environment Research* 5(2), 137–142.
- Billard, P., e DuBow, M.S. (1998). Bioluminescence-based assays for detection and characterization of bacteria and chemicals in clinical laboratories. *Clinical Biochemistry* 31(1), 1–14.

- Brito, A.G., Oliveira, J.M., Peixoto, J.M. (2010). Tratamento de água para consumo humano e uso industrial – elementos teórico-práticos. *Edições Publindústria*, 93-109.
- CE, Comissão Europeia (2000). Directiva-Quadro da Água. DIRECTIVA 2000/60/CE DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 23 de Outubro de 2000 que estabelece um quadro de acção comunitária no domínio da política da água. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* L327, 1-72.
- CE, Comissão Europeia (2001). Decisão nº 2455/2001/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de Novembro de 2001 que estabelece a lista das substâncias prioritárias no domínio da política da água e altera a Directiva 2000/60/CE. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* L331, 1-5.
- CE, Comissão Europeia (2008). Diretiva 2008/105/CE, de 16 de Dezembro de 2008 relativa a normas de qualidade ambiental no domínio da política da água, que altera e subsequentemente revoga as Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE e 86/280/CEE do Conselho, e que altera a Directiva 2000/60/CE. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* L348, 84-97.
- CE, Comissão Europeia (2011). RECOMENDAÇÃO DA COMISSÃO de 18 de Outubro de 2011 sobre a definição de nanomaterial (Texto relevante para efeitos do EEE) (2011/696/UE). *Jornal Oficial da União Europeia* L 275, 38-40.
- Chojnacka, K. (2010). Biosorption and bioaccumulation – the prospects for practical applications. *Environment International* 36, 299-307.
- Chubar, N., Carvalho, J. R., e Correia, M. J. N. (2003). Cork biomass as biosorbent for Cu(II), Zn(II) and Ni(II). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 230(1-3), 57–65.
- Chubar, N., Carvalho, J. R., e Correia, M. J. N. (2004). Heavy metals biosorption on cork biomass: effect of the pre-treatment. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 238(1-3), 51–58.
- Citeve (2012). Estudo das dificuldades das empresas do setor têxtil e vestuário no cumprimento de legislação ambiental. *Citeve*, 1-52.
- Cordova Rosa, E.V., Simonatto, E.L., Souza Sierra, M.M., Bertoli, S.L., Radetski, C.M. (2001). Toxicity-based criteria for the evaluation of textile wastewater treatment efficiency. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 839–845.
- Correia, V.M., Stephenson, T., Judd, S.J. (1994) Characterisation of textile wastewaters—a review. *Environmental Technology* 15, 917–929.
- Corticeira Amorim, S.G.P.S. (2009). CORKSORB - Sustainable Absorbents. URL: <http://www.corksorb.com/index.php?id=118>.
- Crini, G. (2006). Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review. *Bioresource Technology* 97, 1061-1085.
- Daniel, M., Sharpe, A., Driver, J., Knight, A. W., Keenan, P. O., Walmsley, R. M., Robinson, A., Zhange, T., Rawsone, D. (2004). Results of a technology demonstration

- project to compare rapid aquatic toxicity screening tests in the analysis of industrial effluents. *Journal of Environmental Monitoring* 12, 855–865.
- Dantas, M. C., Ramalho, M. D. (2005). *Jogo de Partículas – Química 12º ano. Texto Editores*, 1ª edição, 90-99.
- Davis, T.A., Volesky, B., Mucci, A. (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Research* 37, 4311-4330.
- Demmin, T.R. e Uhrich, K.D. (1988). Improving carpet wastewater treatment. *American Dyestuff Reporter* 77, 13–18.
- Domingues, V. (2005). Utilização de um produto natural (cortiça) como adsorvente de pesticidas piretróides em águas. *Dissertação apresentada para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Química na Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto*, Porto, 1-198.
- Domingues, V., Alves, A., Cabral, M., e Delerue-Matos, C. (2005). Sorption behaviour of bifenthrin on cork. *Journal of Chromatography A* 1069(1), 127–132.
- Duarte, K., Justino, C. I. L., Pereira, R., Panteleitchouk, T. S. L., Freitas, A. C., Rocha-Santos, T. A. P., e Duarte, A. C. (2013). Removal of the organic content from a bleached kraft pulp mill effluent by a treatment with silica-alginate-fungi biocomposites. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering* 48(2), 166–72.
- Ellouze, E., Tahri, N., e Amar, R. Ben. (2012). Enhancement of textile wastewater treatment process using Nanofiltration. *Desalination* 286, 16–23.
- Engates, K. E., e Shipley, H. J. (2011). Adsorption of Pb, Cd, Cu, Zn, and Ni to titanium dioxide nanoparticles: effect of particle size, solid concentration, and exhaustion. *Environmental Science and Pollution Research International* 18(3), 386–95.
- Farooq, U., Kozinski, J.A., Khan, M.A., Athar, M. (2010). Biosorption of heavy metals ions using wheat based biosorbents – a review. *Bioresource Technology* 101, 5043-5053.
- Fernandes, E. M., Correlo, V. M., Chagas, J. A. M., Mano, J. F., e Reis, R. L. (2010). Cork based composites using polyolefin's as matrix: Morphology and mechanical performance. *Composites Science and Technology* 70(16), 2310–2318.
- Fersi, C., Gzara, L., e Dhahbi, M. (2005) Treatment of textile effluents by membrane technologies. *Desalination* 185, 399–409.
- Fiol, N., Villaescusa, I., Martínez, M., Miralles, N., Poch, J., e Serarols, J. (2003). Biosorption of Cr(VI) using low cost sorbents. *Environmental Chemistry Letters* 1(2), 135–139.
- Fischer, B. B., Pomati, F., e Eggen, R. I. L. (2013). The toxicity of chemical pollutants in dynamic natural systems: the challenge of integrating environmental factors and biological complexity. *The Science of the Total Environment* 449, 253–259.

- Foo, K. Y., e Hameed, B. H. (2010). Decontamination of textile wastewater via TiO_2 /activated carbon composite materials. *Advances in colloid and interface science* 159(2), 130–43.
- Galindo, C., Jacques, P., Kalt, A. (2000). Photodegradation of the aminoazobenzene acid orange 52 by three advanced oxidation processes: UV/ H_2O_2 , UV/ TiO_2 and VIS/ TiO_2 ; comparative mechanistic and kinetic investigations. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 130, 35–47.
- Gebrati, L., Idrissi, L. L., Mountassir, Y., e Nejmeddine, a. (2010). [Detoxification of textile industry effluents by photocatalytic treatment]. *Environmental technology*, 31(6), 625–32.
- Gil, L. (1997). Cork powder waste. *Biomass and Bioenergy* 13, 59–61.
- Grzechulska, J., Morawski, A.W. (2002). Photocatalytic decomposition of azo-dye acid black 1 in water over modified titanium dioxide. *Applied Catalysis B: Environmental* 36, 45–51.
- Guaratini, C.C.I. e Zanoni, M.V.B. (2000). Corantes Têxteis – revisão. *Química Nova* 23(1), 71–78.
- Hamdaoui, O. (2006). Batch study of liquid-phase adsorption of methylene blue using cedar sawdust and crushed brick. *Journal of Hazardous Materials* 135 (1-3), 264–273.
- Hao, O. J., Kim, H., e Chiang, P. (2000). Decolorization of Wastewater Decolorization of Wastewater. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 30(4), 449–505.
- Hassan, M.M., Hawkyard, C.J. (2002). Decolourisation of aqueous dyes by sequential oxidation treatment with ozone and Fenton's reagent. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 77, 834–841.
- Hung, W.C., Fu, S.H., Tseng, J., Chu, H., e Ko, T.-H. (2007). Study on photocatalytic degradation of gaseous dichloromethane using pure and iron ion-doped TiO_2 prepared by the sol-gel method. *Chemosphere*, 66(11), 2142–51.
- Hussein, F. (2012). Photochemical Treatments of Textile Industries Wastewater. *Asian Journal of Chemistry* 24(12), 5427–5434.
- Ince, N.H., Tezcanli, G. (1999). Treatability of textile dye-bath effluents by advanced oxidation: preparation for reuse. *Water Science and Technology* 40, 183–190.
- Justino, C. I., Duarte, K., Loureiro, F., Pereira, R., Antunes, S. C., Marques, S. M., Gonçalves, F. Rocha-Santos, T-A.P., e Freitas, A. C. (2009). Toxicity and organic content characterization of olive oil mill wastewater undergoing a sequential treatment with fungi and photo-Fenton oxidation. *Journal of hazardous materials* 172(2-3), 1560–72.
- Karcher, S., Kornmuller, A., Jekel, M., 2001. Screening of commercial sorbents for the removal of reactive dyes. *Dyes Pigments* 51, 111–125.

- Karthikeyan, S., Titus, A., Gnanamani, A., Mandal, A. B., e Sekaran, G. (2011). Treatment of textile wastewater by homogeneous and heterogeneous Fenton oxidation processes. *Desalination*, 281, 438–445.
- Kaushik, P. e Malik, A. (2009). Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. *Environental International* 35, 127-141.
- Khan S.U.M, Al-Shahry, M., Ingler, W.B. (2002). Efficient photochemical water splitting by a chemically modified n-TiO₂. *Science* 297(5590), 2243-2245
- Kim D, El-Shall H, Dennis D, Morey T. (2005). Interaction of PLGA nanoparticles with human blood constituents. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 40(2), 83–91.
- Koivisto, S. (1995). Is *Daphnia magna* an ecologically representative zooplankton species in toxicity tests?. *Environmental Pollution* 90(2), 263–267.
- Kurniawan, T. A., Chan, G.Y.S., Lo, W., Babel, S. (2006). Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals. *Chemical Engineering Journal* 118, 83-98
- Latif, M., e Licek, E. (2004). Toxicity assessment of wastewaters, river waters, and sediments in Austria using cost-effective microbiotests. *Environmental Toxicology* 19(4), 302–309.
- Lequin, S., Chassagne, D., Karbowiak, T., Gougeon, R.G., Brachais, L., Bellat, J.P. (2010). Adsorption equilibria of water vapor on cork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (6), 3438-3445.
- Li, X.Z., Liu, H., Cheng, L.F., Tong, H.J.. (2003). Photocatalytic Oxidation Using a New Catalyst -TiO₂ Microsphere - for Water and Wastewater Treatment. *Environmental Science Technology* 37, 3989–3994.
- Liang, P., Shi, T., e Li, J. (2004). Nanometer-size titanium dioxide separation/preconcentration and FAAS determination of trace Zn and Cd in water sample. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 84(4), 315–321.
- Lim, S., Chu, W., Phang, S. (2010). Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Bioresource Technology* 101, 7314-7322.
- López-Mesas, M., Navarrete, E. R., Carrillo, F., e Palet, C. (2011). Bioseparation of Pb(II) and Cd(II) from aqueous solution using cork waste biomass. Modeling and optimization of the parameters of the biosorption step. *Chemical Engineering Journal*, 174(1), 9–17.
- MA, Ministério do Ambiente (1998). Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto. *Diário da República*, Nº 176, 3676-3722.
- Machado, M.J. (2008). Ativação e Funcionalização de Superfícies Têxteis através de Descargas Plasmáticas. Tese de Mestrado Integrado em Engenharia Química. Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 1-47.

- Machado, R., Carvalho, J. R., e Joana Neiva Correia, M. (2002). Removal of trivalent chromium(III) from solution by biosorption in cork powder. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 77(12), 1340–1348.
- MAOT, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território (2010). Decreto-Lei nº 103/2010. *Diário da República*, 1ª série, nº 187, 4289-4296.
- MAOTDR, Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional (2007). Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto. *Diário da República*, 1ª Série, nº 164, 5747-5765.
- Mark, U., Solbé, J. (1998). Analysis of the Ecetoc Aquatic Toxicity (EAT) database V- the relevance of *Daphnia magna* as a representative test species. *Chemosphere* 36(1), 155-166.
- Marmagne, O. e Coste, C. (1996). Color removal from textile plant effluents. *American Dyestuff Reporter* 84, 15–21.
- Martins, J., Oliva Teles, L., e Vasconcelos, V. (2007). Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. *Environment International* 33(3), 414–25.
- Mauter MS, Elimelech M. (2008). Environmental applications of carbon-based nanomaterials. *Environmental Science Technology* 42(16), 5843–59.
- McWilliam, R., e Baird, D. (2002). Postexposure feeding depression: a new toxicity endpoint for use in laboratory studies with *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology* 21(6), 1198–1205.
- MESA, Ministério da Economia, da Saúde e do Ambiente (1997). Portaria nº 423/97, de 25 de Junho. *Diário da República*, Nº 144I
- Metcalf e Eddy (2003). Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. *McGraw-Hill*, 4ª ed., New York, USA.
- Michels, E., e Meester, L. De. (1998). The influence of food quality on the phototactic behaviour of *Daphnia magna* Straus, *Hydrobiologia* 379, 199–206.
- Moore MN. (2006). Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environment International* 32(8), 967–76.
- Moraes, S.G., Freire, R.S., Duran, N. (2000). Degradation and toxicity reduction of textile effluent by combined photocatalytic and ozonation processes. *Chemosphere* 40, 369–373.
- Mota, D., Marques, P., Pereira, C., Gil, L., e Rosa, M. F. (2004). Lead bioremoval by cork residues as biosorbent. *I.N.E.T.I.*, 1-11.
- Naja, G.M., Volesky, B. (2009). Treatment of metal-bearing effluents: removal and recovery. *Heavy Metals in the Environment*, 247-292.

- Neto, C. P., Rocha, J., Gil, A., Cordeiro, N., Esculcas, A. P., Rocha, S., Correia, A. J. (1995). ^{13}C Solid-state nuclear magnetic resonance and Fourier transform infrared studies of the thermal decomposition of cork. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* 4(3), 143–51.
- Novotný, C., Dias, N., Kapanen, A., Malachová, K., Vándrovcová, M., Itävaara, M., e Lima, N. (2006). Comparative use of bacterial, algal and protozoan tests to study toxicity of azo- and anthraquinone dyes. *Chemosphere* 63(9), 1436–1442.
- OECD, Organization For Economic Co-Operation And Development (2006). Guideline 201. Freshwater Alga and Cyanocabteria, Growth Inhibition Test. March, 1-25.
- OECD, Organization For Economic Co-Operation And Development (2004). Guideline 202. *Daphnia* sp. Acute Imobilisation Test. Abril, 1-12.
- OECD, Organization For Economic Co-Operation And Development (2006). Guideline 221. *Lemna* sp. Growth Inhibition Test. March, 1-22.
- Oke, L.A., Olarinoye, N.O., Adewusi, S.R.A. (2008). Adsorption kinetics for arsenic removal from aqueous solutions by untreated powdered eggshell. *Adsorption* 14, 73-83.
- Olivella, M. À., Jové, P., e Oliveras, A. (2011). The use of cork waste as a biosorbent for persistent organic pollutants-Study of adsorption/desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 46(8), 824–32.
- Parande, A. K., Sivashanmugam, A., Beulah, H., Palaniswamy, N. (2009). Performance evaluation of low cost adsorbents in reduction of COD in sugar industrial effluent. *Journal of Hazardous Materials* 168 (2-3), 800-805.
- Park, D., Yun, Y.S., Park, J.M. (2010). The Past, Present, and Future Trends of Biosorption. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 15, 86-102.
- Parvez, S., Venkataraman, C., e Mukherji, S. (2006). A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. *Environment International* 32, 265–268.
- Pereira, R., Antunes, S. C., Gonçalves, A. M.M., Marques, S. M., Gonçalves, F., Ferreira, F., Freitas, A.C., Rocha-Santos, T.A.P., Diniz, M.S., Castro, L., Peres, I., Duarte, A.C. (2009). The effectiveness of a biological treatment with *Rhizopus oryzae* and of a photo-Fenton oxidation in the mitigation of toxicity of a bleached kraft pulp mill effluent. *Water Research* 43(9), 2471–80.
- Pereira, R., Antunes, S. C., Gonçalves, A.M. M., Marques, S. M., Gonçalves, F., Ferreira, F., Duarte, A. C. (2009). The effectiveness of a biological treatment with *Rhizopus oryzae* and of a photo-Fenton oxidation in the mitigation of toxicity of a bleached kraft pulp mill effluent. *Water Research* 43(9), 2471–80.
- Phyu, Y. L., Warne, M.St.J., e Lim, R.P. (2005). Effect of river water, sediment and time on the toxicity and bioavailability of molinate to the marine bacterium *Vibrio fischeri* (Microtox). *Water Research* 39(12), 2738–46.

- Pintor, A.M.A., Ferreira, C.I.A., Pereira, J.C., Correia, P., Silva, S.P., Vilar, V.J.P., Botelho, C.M.S., Boaventura, R.A.R. (2012). Use of cork powder and granules for the adsorption of pollutants: a review. *Water Research* 46(10), 3152–66.
- Prasher, S.O., Beaugeard, M., Hawari, J., Bera, P., Patel, R.M., Kim, S.H. (2004). Biosorption of heavy metals by red algae (*Palmaria Palmata*). *Environmental Technology* 25(10), 1097-1106.
- Radić, S., Stipaničev, D., Cvjetko, P., Marijanović Rajčić, M., Sirac, S., Pevalek-Kozlina, B., e Pavlica, M. (2011). Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74(2), 182–187.
- Radić, S., Stipanicev, D., Cvjetko, P., Mikelić, I. L., Rajčić, M. M., Sirac, S., Pavlica, M. (2010). Ecotoxicological assessment of industrial effluent using duckweed (*Lemna minor* L.) as a test organism. *Ecotoxicology* (London, England) 19(1), 216–222.
- Ramos, C.S.S.F. (2008). Tratamento de águas contaminadas com cobre por bioissorção em cascas de crustáceos. Tese de Mestrado em Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 1-56.
- Recillas, S., García, A., González, E., Casals, E., Puentes, V., Sánchez, A., e Font, X. (2011). Use of CeO_2 , TiO_2 and Fe_3O_4 nanoparticles for the removal of lead from water. *Desalination* 277(1-3), 213–220.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., e Nigam, P. (2001). Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology* 77(3), 247–55.
- Rodrigues, C.S. (2007). Tratamento de Efluentes Têxteis por Processos Combinados de Oxidação Química e Biológica. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente (Área de especialização de Tratamento de Águas e Águas Residuais), Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 9-18.
- Safarzadeh, A.A., Bolton, J.R., Cater, S.R. (1997). Ferrioxalate-mediated photodegradation of organic pollutants in contaminated water. *Water Research* 31, 787–798.
- Santos, A. B., Cervantes, F. J., e Van Lier, J. B. (2007). Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresource Technology* 98(12), 2369–85.
- Sarayu, K., e Sandhya, S. (2012). Current technologies for biological treatment of textile wastewater-a review. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 167(3), 645–61.
- Schmitt-Jansen, M., Veit, U., Dudel, G., e Altenburger, R. (2008). An ecological perspective in aquatic ecotoxicology: Approaches and challenges. *Basic and Applied Ecology* 9(4), 337–345.
- Shankar, K., Basham, J.I., Allam, N.K., Varghese, O.K., Mor, G.K., Feng, X.J., Paulose, M., Seabold, J.A., Choi, K., Grimes, C.A. (2009). Recent advances in the use of TiO_2

- nanotube and nanowire arrays for oxidative. *Journal of Physical Chemistry C* 113, 6327–59.
- Sharma, K. P., Sharma, S., Sharma, S., Singh, P. K., Kumar, S., Grover, R., e Sharma, P. K. (2007). A comparative study on characterization of textile wastewaters (untreated and treated) toxicity by chemical and biological tests. *Chemosphere* 69(1), 48–54.
- Silva, M. (1999). A Indústria Têxtil e o Ambiente – Desafios actuais do Sector. *Revista AEP* 28, 1-6.
- Silva, S. P., Sabino, M. A., Fernandes, E. M., Correlo, V. M., Boesel, L. F., e Reis, R. L. (2005). Cork: properties, capabilities and applications. *International Materials Reviews* 50(6), 345–365.
- Siwińska, D., Kołodziejczak-Radzimska, A., Krysztalkiewicz, A., e Jesionowski, T. (2009). Adsorption of octylamine on titanium dioxide. *Applied Surface Science* 255(16), 7337–7342.
- So, C.M., Cheng, M.Y., Yu, J.C., Wong, P.K. (2002). Degradation of azo dye Procion Red MX-5B by photocatalytic oxidation. *Chemosphere* 46, 905–912.
- Soupilas, A., Papadimitriou, C. A., Samaras, P., Gudulas, K., e Petridis, D. (2008). Monitoring of industrial effluent ecotoxicity in the greater Thessaloniki area. *Desalination* 224(1-3), 261–270.
- Sponza, D. T. (2006). Toxicity studies in a chemical dye production industry in Turkey. *Journal of Hazardous Materials*, 138(3), pp 438–47.
- Sulaymon, A. H., Abid, B. A., e Al-Najar, J. A. (2009). Removal of lead copper chromium and cobalt ions onto granular activated carbon in batch and fixed-bed adsorbers. *Chemical Engineering Journal* 155(3), 647-653.
- Tehrani-Bagha, A. R., Mahmoodi, N. M., e Menger, F. M. (2010). Degradation of a persistent organic dye from colored textile wastewater by ozonation. *Desalination* 260(1-3), 34–38.
- Upadhyayula, V.K.K., Deng, S., Mitchell, M.C., Smith, G.B. (2009). Application of carbon nanotube technology for removal of contaminants in drinking water: a review. *Science Total Environmental* 408(1), 1-13.
- Van der Zee, F. (2002). Anaerobic azo dye reduction. Environmental Technology. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 1-142.
- Vandevivere, P.C., Bianchi, R., Verstraete, W. (1998). Treatment and reuse of wastewater from the textile wet-processing industry: review of emerging technologies. *Journal Chemical Technology and Biotechnology* 72, 289– 302.
- Vannini, C., Domingo, G., Marsoni, M., De Mattia, F., Labra, M., Castiglioni, S., e Bracale, M. (2011). Effects of a complex mixture of therapeutic drugs on unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)* 101(2), 459–65.

- Veglio, F., Beolchini, F. (1997). Removal of metals by biosorption: a review. *Hydrometallurgy* 44, 301-316.
- Vijayaraghavan, K., Yun, Y. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances* 26, 266-291.
- Villaescusa, I., Fiol, N., Cristiani, F., Floris, C., Lai, S., e Nurchi, V. M. (2002). Copper(II) and nickel(II) uptake from aqueous solutions by cork wastes: a NMR and potentiometric study. *Polyhedron* 21(14-15), 1363–1367.
- Volesky, B. (2007). Biosorption and me. *Water Research* 41, 4017-4029.
- Wang, J., Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances* 27, 195-226.
- Wang, L., Ma, W., Xu, L., Chen, W., Zhu, Y., Xu, C., Kotov, N.A. (2010). Nanoparticle-based environmental sensors. *Materials Science Engineering:R: Reports* 70(3–6), 265–74.
- Wold A. (1993). Photocatalytic properties of TiO₂. *Chemistry of Materials* 5, 280–3.
- Yang, Y., Wyatt, D.T., Bahorsky, M. (1998). Decolorization of dyes using UV/H₂O₂ photochemical oxidation. *Textile Chemist and Colorist* 30, 27– 35.
- Zhang, W., Liu, W., Zhang, J., Zhao, H., Zhang, Y., Quan, X., e Jin, Y. (2012). Characterisation of acute toxicity, genotoxicity and oxidative stress posed by textile effluent on zebrafish. *Journal of Environmental Sciences* 24(11), 2019–2027.

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL

2.1. Introdução

Os efluentes da indústria têxtil contêm uma mistura complexa de poluentes, como corantes e pigmentos, sais, metais, biocidas, surfatantes e muitos outros componentes orgânicos e inorgânicos que podem ser alvo de fenómenos de complexação (Sharma *et al.*, 2007; Eremektar *et al.*, 2007; Verma, 2008). Devido à complexidade destes efluentes, a avaliação da sua perigosidade somente através de análises químicas é insuficiente, sendo por isso, necessário combinar com análises biológicas (Sharma *et al.*, 2007).

Os bioensaios de toxicidade são úteis para avaliar o efeito de águas residuais em seres vivos, representativos das espécies alvo nos sistemas recetores. Estes ensaios devem ser feitos em organismos sensíveis e em diferentes níveis de organização biológica. Contudo, os efeitos observados nestes organismos, embora contribuam para a identificação de fatores de desequilíbrio dos ecossistemas, não podem ser diretamente extrapolados para prever as respostas de um ecossistema (Puig e Loez, 2004).

Neste capítulo o objetivo principal é avaliar a toxicidade de amostras de efluente bruto e tratado de uma indústria têxtil do centro do país. Os ensaios de toxicidade realizados representam três níveis tróficos do ecossistema: bactérias; algas e macrófitas aquáticas (produtores primários aquáticos) e cladóceros (consumidores intermediários aquáticos). Os parâmetros testados foram a bioluminescência (*Vibrio fischeri*), a sobrevivência (*Daphnia magna*), taxa de alimentação (*D. magna*) e crescimento (*Pseudokirchneriella subcapitata* e *Lemna minor*).

2.2. Material e Métodos

2.2.1. Caracterização físico-química das amostras de efluente têxtil utilizadas

2.2.1.1. Medição da cor, condutividade, Sólidos Dissolvidos Totais (SDT) e pH

Foram recolhidas 4 amostras de efluente têxtil, duas de efluente bruto (EB1 e EB2) e duas de efluente tratado nas instalações da empresa têxtil (ET1 e ET2), contudo para os ensaios de toxicidade apenas foram utilizadas 3 amostras, uma de efluente bruto (EB2) e duas de efluente tratado (ET1 e ET2). As amostras de efluente tratado foram sujeitas a tratamento físico, biológico e químico efetuado na ETAR da própria empresa. Primeiramente os efluentes passam por um processo físico que filtra os principais resíduos sólidos presentes. Em seguida, o efluente passa para um tanque de homogeneização/equalização, que possui um sistema de arejamento do tipo Venturi

(arejador submerso) para uma pré-oxidação da matéria orgânica. A este tanque é adicionado ácido sulfúrico, com o objetivo de corrigir o pH para valores entre 6 e 8. Seguidamente segue-se o tratamento biológico nos tanques de arejamento, no qual a matéria orgânica em suspensão e dissolvida é decomposta por ação das bactérias e do oxigénio. Neste tanque são ainda adicionados flocculantes de forma a permitir a agregação de partículas como os corantes para posterior decantação. As lamas resultantes deste processo vão para um decantador, onde ocorre a separação das lamas, que são mais pesadas, e da água que fica à superfície, sendo esta encaminhada para o tanque biológico. Parte das lamas são também encaminhadas para o tanque biológico e as lamas em excesso são enviadas para um tanque onde se adiciona um flocculante para se proceder à extração das lamas num filtro prensa. Finalmente as lamas são desidratadas e enviadas para aterro sanitário e o efluente tratado é descarregado num coletor municipal.

A cor das amostras foi determinada num fotómetro C200, que utiliza o método platina de cobalto, considerado como padrão para a medição da cor de águas potáveis e naturais. Primeiramente estabeleceu-se o branco com água desionizada. De seguida, leu-se a amostra filtrada com filtro de fibra de vidro *Whatman* de porosidade 1,2 µm. O resultado no fotómetro é apresentado em unidades de cor.

Os valores de pH, condutividade e de SDT foram obtidos pelo medidor multiparâmetros portátil HI 991300.

2.2.1.2. Análise química do efluente por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS)

As amostras de efluente têxtil, Efluente Bruto 2 (EB2) e Efluente Tratado 1 (ET1), foram concentradas pela técnica de extração em fase sólida (SPE). Para o isolamento e a pré-concentração dos poluentes usaram-se dois adsorventes: o C18 (500 mg, 6 ml) e o estireno divinilbenzeno (200 mg, 6 ml). No cartucho C18 foram adicionados 50 ml da amostra de efluente, que foi acidificada para valores de pH de 3. De seguida esta foi carregada no cartucho de estireno divinilbenzeno a 15 ml/minuto e foi eluída com 10 ml de uma solução de trietilamina (5mM) e de ácido acético/metanol (5mM) (1:9, v/v), para a dessorção de substâncias aniónicas. Os eluentes utilizados para dessorção foram os seguintes: 2x5 ml de hexano seguido por 2x5 ml de diclorometano/hexano (4:1, v/v) e 2x5 ml de metanol/diclorometano (9:1, v/v). Finalmente, a evaporação total do extrato foi efetuada num fluxo de azoto. Os extratos foram reconstituídos para um volume final de 1 ml de metanol antes da análise.

Para análise das amostras realizou-se uma cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (“GC-MS”) num aparelho de marca Shimadzu, com uma coluna capilar de sílica fundida (DB-17-HT, 30 m×0.25 mm×0.1 µm).

A amostra (0,2 ml) é introduzida, a uma pressão de 15 psi, num fluxo de gás, hélio, denominado gás de transporte. A temperatura do cromatógrafo inicia-se em 40°C e aumenta até os 350°C, a uma velocidade de 8°C/minuto. Os constituintes da amostra são assim separados de acordo com a sua solubilidade e volatilidade na coluna cromatográfica. Quanto maior a solubilidade de um constituinte mais lentamente ele percorre a coluna e quanto maior a volatilidade mais rapidamente percorre o sistema.

As amostras provenientes do cromatógrafo a gás são bombardeadas por um feixe de eletrões e o aparelho registra os fragmentos gerados pelo impacto dos eletrões. A ionização por impacto eletrónico, método de ionização do equipamento de espectrometria de massa, decorreu a uma energia de ionização de 70 eV, temperatura da fonte a 200°C e a temperatura da interface a 350°C.

Para a quantificação foi usada uma série de injeções padrão disponíveis na mesma gama de concentrações da amostra para obter as equações de calibração.

2.2.2. Ensaio de toxicidade com *Vibrio fischeri*, Microtox®

O ensaio de toxicidade com a bactéria luminescente *V. fischeri* foi realizado usando o sistema de toxicidade Microtox® (Microtox Model 500) com um registo automático da luminescência, seguindo o protocolo do manual Microtox® Omni (AZUR Environmental, 1998). Os efluentes testados foram o efluente bruto 2 (EB2) e o efluente tratado 1 (ET1), que foram previamente filtrados com filtros de fibra de vidro *Whatman*, com porosidade de 1,2 µm. Foram usadas bactérias marinhas liofilizadas luminescentes (*Vibrio fischeri strain* NRRL B-11177). Todas as curvas dose-resposta correspondem a 8 diluições, cada uma em duplicado e com quatro controlos. A intensidade da luminescência em todas as cuvets foi medida antes da adição da água residual e 5, 15 e 30 minutos após a adição. Correção automática da cor foi realizada quando necessário. O efeito inibitório na bioluminescência foi calculado pelo *software* MicrotoxOmni Azur (AZUR Environmental, 1998).

2.2.3. Ensaio de toxicidade com *Pseudokirchneriella subcapitata*

2.2.3.1. Manutenção das culturas de *Pseudokirchneriella subcapitata*

As culturas de *P. subcapitata* foram mantidas no meio de cultura Woods Hole MBL, composto pelas vitaminas, e pelos macro e micronutrientes indicados na Tabela 2.1 (Soares, 1989). As soluções *stock* foram armazenadas no frigorífico a 4°C, em frascos de vidro escuros. Semanalmente prepararam-se 4 litros de MBL num frasco preparado para o efeito, tal como está representado na Figura 2.1. Colocou-se a solução na autoclave, a 121°C, durante 80 minutos. Após arrefecimento adicionou-se à solução 500 µl de vitaminas.

Tabela 2.1 – Composição química do meio de cultura de *P. subcapitata* MBL. Adaptado de Soares (1989).

	Fórmula Química	Quantidade de composto para solução stock (g/l)	Volume retirado da solução stock por cada litro de meio (ml)
Macronutrientes	CaCl ₂ ·2H ₂ O	36,760	1
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	36,970	1
	NaHCO ₃	12,600	1
	K ₂ HPO ₄	8,710	1
	NaNO ₃	85,010	1
	Na ₂ SiO ₃ ·9 H ₂ O	28,420	1
Micronutrientes	Na ₂ EDTA	4,360	1
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	3,150	1
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,001	1
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,022	1
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,010	1
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,180	1
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,006	1
Vitaminas (*)	Tiamina HCl (B ₁)	0,1mg/l	
	Biotina (H)	0,5mg/l	
	Cianocobalamina (B ₁₂)	0,5mg/l	
	TRIS (hidroximetilaminometano) (**)	50g/200ml	2

(*) só são adicionadas ao meio após autoclavagem e arrefecimento

(**) o pH tem que ser ajustado a 7,2 a 20°C, adicionando HCl

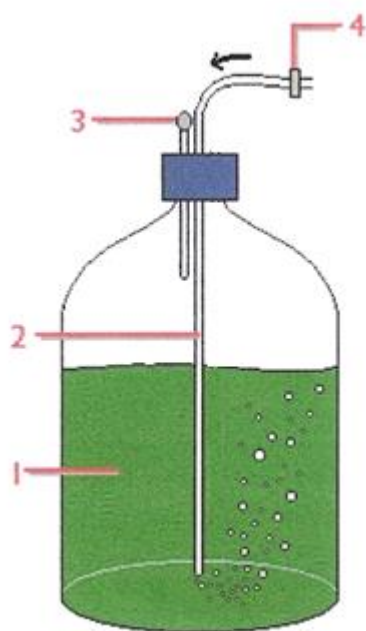


Figura 2.1- Esquema representativo do sistema de cultura da alga *Pseudokirchneriella subcapitata* (Antunes, 2001). 1) Cultura de *P. subcapitata* em meio de cultura MBL; 2) Mangueira de arejamento; 3) Mangueira com gaze; 4) Filtro de membrana de 1,2 μm ; (Antunes, 2001).

2.2.3.2. Ensaio de inibição do crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata*

O ensaio de inibição de crescimento com *P. subcapitata* em microplaca foi realizado para o efluente bruto 2 (EB2) e para o efluente tratado 1 (ET1) e seguiu uma metodologia baseada no protocolo padronizado OCDE nº 201 (2006). Ambos os efluentes foram filtrados com filtro de fibra de vidro *Whatman*, com porosidade de 1,2 μm . Foi usada uma cultura de *P. subcapitata* em fase exponencial de crescimento (3-4 dias) e determinou-se, por contagem de células, a concentração de algas do inóculo (nº de células por ml). Para esta contagem usou-se uma câmara de Neubauer, que tem duas grelhas de contagem como as da Figura 2.2. Após carregar a câmara com o inóculo inicial, contou-se o número de células do quadrado Q5 de ambas as grelhas e repetiu-se este procedimento com mais duas amostras do inóculo inicial. Calculou-se a média do nº de células contabilizadas e determinou-se a concentração de microalgas do inóculo, sabendo que o fator de conversão para células/ml em Q5 é de 10^4 .

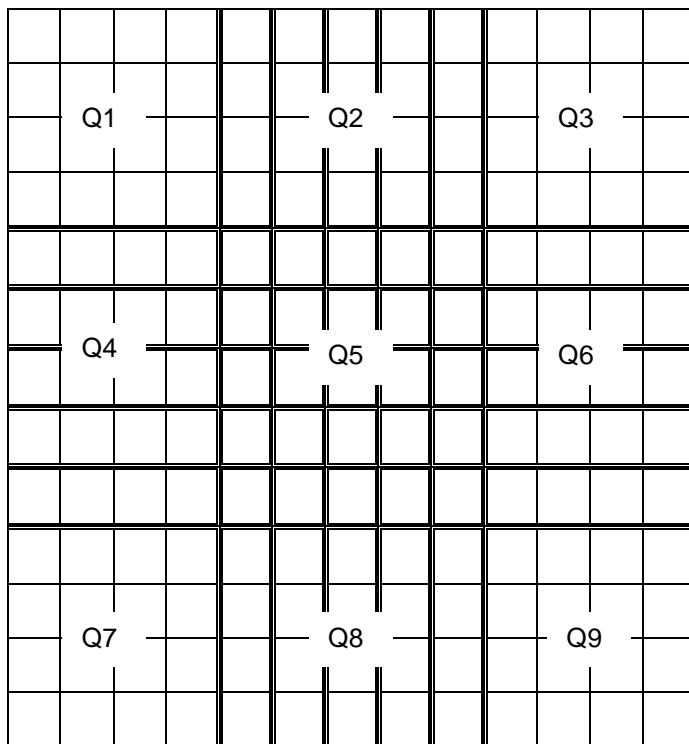


Figura 2.2 – Esquema da grelha de contagem da câmara de *Neubauer*.

A concentração de algas com que se deve iniciar o ensaio deve ser de 10^4 células/ml. Assim, a partir do nº de células contadas do inóculo na câmara de *Neubauer* procedeu-se à diluição do inóculo para este atingir a concentração de células desejada para iniciar o ensaio. Além da contagem do nº de células, leu-se a absorvância do inóculo para confirmação, partindo-se de medições prévias com base nas quais se sabe que para uma concentração celular inicial de 10^4 células/ml, a absorvância, a 440 nm, foi de 0,01.

Prepararam-se as diluições do efluente com meio MBL, para o efluente bruto 2 (EB2) e para o efluente tratado 1 e 2 (ET1 e ET2), considerando que são necessários 3700µl de cada diluição. Para o ET1 e para o ET2 foram testadas 8 concentrações com um fator de diluição de 1,06 (100; 94,34; 89,00; 83,96; 79,21; 74,73; 70,50 e 66,51%) Para o EB2 testaram-se igualmente 8 concentrações com um fator de diluição de 1,1 (100; 90,9; 82,6; 75,1; 68,3; 62,1; 56,5 e 51,3%) De seguida, em ambiente estéril (junto à chama) carregaram-se as microplacas de 24 poços conforme esquematizado na Figura 2.3.

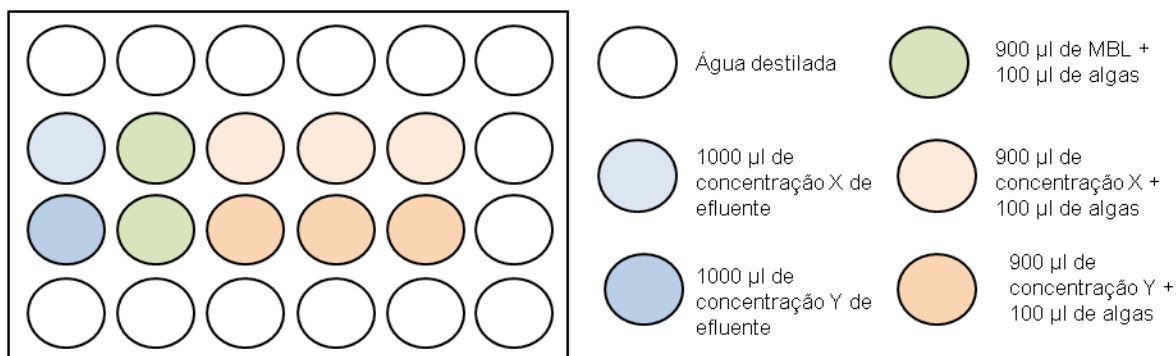


Figura 2.3 – Esquema representativo do preenchimento das microplacas usadas para o ensaio.

O ensaio decorreu durante 72 horas, em luz contínua, a uma temperatura controlada de $23 \pm 2^\circ\text{C}$. As placas foram ressuspensas com uma micropipeta de 1000 μL , de 12 em 12 horas, para minimizar a sedimentação das algas no fundo dos poços. No final do tempo de exposição leu-se a absorvância a 440 nm para cada réplica. A concentração de células foi calculada através da equação da reta de calibração (Eq. 2.1):

$$\text{N}^\circ \text{células} / \text{ml} = -17107,5 + \text{abs} \times 7925350 \quad (\text{Eq. 2.1})$$

Para este ensaio ser válido tem que cumprir os seguintes pressupostos: (i) o número de células no controlo deve aumentar pelo menos 16 vezes, relativamente ao inóculo inicial, que corresponde a uma taxa de crescimento específico de $0,92 \text{ dias}^{-1}$; (ii) a variação entre as réplicas dos controlos não deve exceder os 7%.

A taxa média de crescimento específico foi calculada de acordo com a equação 2.2 (OCDE, 2006):

$$\mu_{i-f} = \frac{\ln X_f - \ln X_i}{t_f - t_i} (\text{dias}^{-1}) \quad (\text{Eq. 2.2})$$

onde, μ_{i-f} é a taxa média de crescimento específico do tempo i (inicial) ao tempo f (final); X_i é a biomassa no tempo i e X_f é a biomassa no tempo j.

Com os valores da taxa média específica de crescimento para cada tratamento calculou-se a percentagem de inibição da taxa de crescimento a partir da equação 2.3 (OCDE, 2006):

$$\%Ir = \frac{\mu_c - \mu_T}{\mu_c} \times 100 \quad (\text{Eq. 2.3})$$

onde, %Ir é a percentagem de inibição da taxa média específica de crescimento; μ_c é o valor médio da taxa de crescimento específico (μ) para o grupo controlo e μ_T é o valor médio da taxa de crescimento específico (μ) para cada tratamento.

2.2.4. Ensaio de Toxicidade com *Lemna minor*

2.2.4.1. Obtenção e manutenção de *Lemna minor*

As culturas de *L. minor* foram iniciadas a partir de exemplares recolhidos de um lago, situado no interior de uma estufa, do Jardim Botânico do Porto. As plantas foram mantidas num meio de cultura denominado Steinberg (OECD, 2006), composto pelos macro e os micronutrientes indicados na Tabela 2.2. As soluções *stock* dos diferentes nutrientes foram previamente preparadas e armazenadas no frigorífico, a 4°C, em frascos de vidro escuros. Para a preparação de um litro de meio de cultura adicionou-se 20 ml das soluções *stock* 1, 2 e 3 a cerca de 900 ml de água destilada, para evitar a precipitação dos sais e posteriormente 1 ml das soluções *stock* 4, 5, 6 e 7. De seguida o pH foi ajustado a $5,5 \pm 0,2$ (com solução de NaOH 1M ou HCL 1M). Ajustou-se o volume da solução para 1 litro com água destilada e colocou-se a solução na autoclave, a 121°C durante 20 minutos. Após o arrefecimento da solução adicionou-se 1 ml da solução *stock* 8, previamente filtrada com membrana de 0,2 µm.

Para manutenção das culturas de *Lemna minor*, o meio de cultura foi mudado duas vezes por semana, colocando no novo meio de cultura STEINBERG algumas colónias da cultura anterior. As culturas foram mantidas em câmaras climáticas com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e sujeitas a um fotoperíodo de 16h L: 8h E.

No caso de contaminação com algas, procedeu-se a uma esterilização superficial de acordo com o recomendado no protocolo padronizado 221 da OECD (OECD, 2006). Retirou-se uma amostra do material vegetal contaminado e cortaram-se as raízes. De seguida, as plantas foram colocadas em água destilada com agitação manual, para uma melhor dispersão do *perifiton*. Posteriormente imergiram-se numa solução de 0,5% (v/v) de hipoclorito de sódio, durante 2 minutos e após uma lavagem final com água destilada foram transferidas para frascos de cultura com meio de cultura fresco.

Tabela 2.2 –Composição do meio de cultura STEINBERG para *L. minor* (OCDE, 2006).

Fórmula química	Quantidade de composto para solução stock	Volume de solução concentrada para 1 litro de meio de cultura
Solução stock 1:		
KNO ₃	17,50 g L ⁻¹	20ml
KH ₂ PO ₄	4,5 g L ⁻¹	
K ₂ HPO ₄	0,63 g L ⁻¹	
Solução stock 2:		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	5,00 g L ⁻¹	20ml
Solução stock 3:		
Ca(NO ₃) ₂ ·7H ₂ O	0,80 g L ⁻¹	20ml
Solução stock 4:		
H ₃ BO ₃	120 mg L ⁻¹	1ml
Solução stock 5:		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	180 mg L ⁻¹	1 ml
Solução stock 6:		
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	44 mg L ⁻¹	1 ml
Solução stock 7:		
MnCl ₂ ·4H ₂ O	180 mg L ⁻¹	1 ml
Solução stock 8:		
FeCl ₃ ·6H ₂ O	760 mg L ⁻¹	1 ml
EDTA Dissódico dihidratado	1500 mg L ⁻¹	

2.2.4.2. Ensaio de inibição do crescimento de *Lemna minor*

Os ensaios com a planta aquática *L. minor* foram realizados de acordo com o protocolo padronizado 221 proposto pela OECD (2006). O ensaio foi realizado em triplicado, em *erlenmeyers* de 150 ml, com um volume de amostra de 100 ml. Foram testadas 5 concentrações para o Efluente Bruto 2, com um fator de diluição de 1,4 (100%; 71,4%; 51%; 36,4% e 26%). O ensaio ao EB2 foi realizado com ajuste de pH, uma vez que este apresenta um valor de pH de 3,07, pois sem o ajuste há uma total inibição no crescimento e no desenvolvimento das frondes (testado em ensaio preliminar). Para o Efluente Tratado 2 foram testadas 6 concentrações, como um fator de diluição de 1,1

(100%; 90,9%; 82,6%; 75,1%; 68,3% e 62,1%), concentrações escolhidas após um ensaio prévio.

O meio STEINBERG foi usado como controlo durante o ensaio. As diferentes diluições de efluente testadas foram preparadas com efluente filtrado através de filtros de fibra de vidro *Whatman*, de 1,2µm de porosidade e com o meio STEINBERG. Os *Erlenmeyers* foram cobertos com película aderente para evitar evaporação.

Doze frondes de *L. minor* (2 a 3 frondes por colónia) de tamanho semelhante foram selecionadas aleatoriamente e colocadas em cada réplica. O ensaio foi realizado numa câmara fitoclimática, a 22±2°C, com um fotoperíodo de 16h^L: 8h^E, com uma intensidade luminosa de aproximadamente 7000 lux, durante 7 dias. A biomassa seca inicial das plantas foi determinada após 12 horas, a 60°C, em três réplicas. No final do ensaio registou-se o número de frondes e a sua biomassa seca final para calcular a taxa de inibição de crescimento de frondes e a taxa de redução da biomassa. O valor do pH foi também registado no início e no final de cada ensaio, em todas as réplicas.

Para que o ensaio seja válido, o tempo de duplicação do número de frondes no controlo deve ser inferior a 2,5 dias (60 horas), o que corresponde a, aproximadamente, um aumento do número de frondes e da biomassa seca de 7 vezes em 7 dias, e a uma taxa média de crescimento específico de 0,275 d⁻¹. O tempo de duplicação (T_d) do número de frondes para validar os controlos é determinado pela seguinte fórmula:

$$T_d = \ln 2 / \mu \quad (\text{Eq. 2.4})$$

onde μ é a taxa média de crescimento específico (determinada pela equação 2.2).

Com base no protocolo padronizado 221 da OECD (2006) foram calculados, para cada um dos parâmetros, a taxa de crescimento específico (equação 2.5) e a respetiva percentagem de inibição da taxa de crescimento específico (equação 2.6).

$$\mu_{i-f} = \frac{\ln(N_{final}) - \ln(N_{inicial})}{t} \quad (\text{Eq. 2.5})$$

onde μ_{i-f} é a taxa de crescimento específico do início do ensaio (*i*) até ao final (*f*); $N_{inicial}$ e N_{final} correspondem ao parâmetro medido para as diferentes concentrações testadas ou para o controlo no tempo *i* e *f*, respetivamente; e *t* é o período de tempo desde *i* até *f*.

$$\%Ir = \frac{\mu_C - \mu_T}{\mu_C} \times 100 \quad (\text{Eq. 2.6})$$

Onde %*Ir* é a percentagem de inibição da taxa de crescimento específico, μ_C é o valor médio de μ no controlo e μ_T é o valor médio de μ no grupo de tratamento (corresponde às diferentes concentrações testadas).

2.2.5. Ensaio de toxicidade com *Daphnia magna*

2.2.5.1. Manutenção e cultivo de *Daphnia magna*

As culturas de *Daphnia magna* foram mantidas num meio de cultura sintético “ASTM hard water” preparado com água destilada e com os compostos químicos indicados na Tabela 2.3. As soluções stock foram armazenadas no frigorífico a 4°C, em frascos de vidro escuros. O meio de cultura ASTM foi armazenado num bidão de plástico de 20 litros, com o pH ajustado para valores de 8.

Tabela 2.3 – Composição do meio artificial para ensaios de toxicidade com organismos de água doce, meio ASTM (OCDE, 2004).

Fórmula química	Quantidade de composto para solução stock	Volume de solução concentrada para 20 litros de meio de cultura
NaHCO ₃	19,20 g L ⁻¹	200ml
MgSO ₄ ·7H ₂ O	24,57 g L ⁻¹	200ml
KCl	0,80 g L ⁻¹	200ml
CaSO ₄ ·2H ₂ O ^(a)	2,40 g 2L ⁻¹	2 Litros ^(a)
Tiamina HCl (B1) Biotina (H) Cianocobalamina (B12)	0,150g 100mL ⁻¹ 0,002g 100mL ⁻¹ 0,0015g 100mL ⁻¹	1 ml de uma solução combinada de vitaminas ^(b)

(a) A solução foi preparada no momento da preparação do meio ASTM e devido à baixa solubilidade do composto.

(b) Os três compostos foram dissolvidos conjuntamente num volume final de 100ml. A solução foi filtrada (filtro de 0,2 µm) e guardada no congelador em microtubos. Cada microtubo contém 1ml da solução combinada de vitaminas.

2.2.5.2. Ensaio Agudo de Imobilização com *Daphnia magna*

Os ensaios com *D. magna* foram realizados de acordo com o protocolo 202 proposto pela OECD (2004). Os neonatos de uma ninhada n3, n4 ou n5, com menos de 24 horas de idade, foram expostos a diferentes diluições do efluente teste por um período de 48 horas. A imobilização foi registada às 24 e às 48 horas. Os indivíduos mortos foram sempre retirados dos tubos de ensaio.

Para cumprir o critério de validação definido pela OECD (2004), os grupos controlo não devem exceder 10% de imobilização e a concentração de oxigénio dissolvido deve ser superior a 3 mg/l no controlo e nas soluções teste, durante todo o ensaio.

O ensaio foi realizado em tubos de ensaios, cada um com 5 indivíduos, expostos a um volume de 25ml para cada uma das 4 réplicas das 7 concentrações testadas. O ensaio decorreu a uma temperatura de 20°C, sem adição de alimento. O pH e o oxigénio dissolvido foram medidos no início e no fim do ensaio.

As concentrações testadas correspondem a diluições do efluente têxtil, com um fator de diluição de 1,5 (100; 66,7; 44,4; 29,6; 19,8; 13,2 e 8,8%) Tanto o EB2 como o ET1 foram filtrados com filtros de fibra de vidro *Whatman*, de 1,2µm de porosidade.

2.2.5.3. Ensaio de inibição alimentar com *Daphnia magna*

O ensaio de inibição alimentar com *D. magna* foi realizado para o efluente bruto 2 (EB2) e para o efluente tratado 1 (ET1) e seguiu a metodologia descrita por McWilliam e Baird (2002). Ambos os efluentes foram filtrados com filtros de fibra de vidro *Whatman*, de 1,2µm de porosidade. Neonatos com 4 dias de idade, de uma ninhada n3, n4 ou n5, foram expostos, durante 24 horas, a 12 ml de diferentes diluições de efluente. As concentrações de efluente que foram testadas basearam-se no EC₅₀ às 24 horas do ensaio agudo de imobilização com *D. magna*. Para o EB2 testaram-se 8 concentrações com um fator de diluição de 1,3 (36,50; 28,08; 21,60; 16,61; 12,78; 9,83; 7,56 e 5,82%). Para o ET2 testaram-se 5 concentrações com um fator de diluição de 1,2 (100; 83,33; 69,44; 57,87 e 48, 23%). Inicialmente, a cada concentração teste foi adicionado igual concentração da microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*, 5x10⁵ células/ml, de modo a determinar o efeito dos efluentes na taxa de alimentação de *D. magna*. Para cada concentração testada utilizaram-se 4 réplicas. O controlo foi preparado com 12 ml de meio de cultura ASTM e com a mesma concentração de células algais. O ensaio foi realizado no escuro para evitar o crescimento das algas.

Após 24 horas retiram-se os neonatos e determinou-se a concentração de células remanescente, medindo a absorvância a 440nm, num espectrofotómetro de feixe duplo calculando posteriormente o número de células por volume através da equação da reta de calibração (Eq. 2.7):

$$N^{\circ} \text{células / ml} = -17107,5 + \text{abs} \times 7925350 \quad (\text{Eq. 2.7})$$

O valor de absorvância usado no cálculo da equação 2.7 resulta da subtração da absorvância registada após as 24 horas de ensaio à absorvância que os diferentes tratamentos apresentavam inicialmente, uma vez que o efluente têxtil apresenta coloração.

Foi ainda determinada a concentração de algas ingeridas por hora (células/ml/h) segundo a equação 2.8 e a percentagem de inibição da alimentação relativamente ao controlo segundo a equação 2.9.

$$n^{\circ}(\text{células/ml/h}) = \frac{n^{\circ}\text{células/ml}(\text{inicial}) - n^{\circ}\text{células/ml}(\text{final})}{24} \quad (\text{Eq. 2.8})$$

onde,

Nº células/ml/h - concentração de algas ingeridas por hora;

Nº células/ml inicial – concentração de algas inicial

Nº células/ml final – concentração de algas final

$$\% \text{Inibição da Alimentação} = \frac{n^{\circ}\text{células/ml/h}(\text{controlo}) - n^{\circ}\text{células/ml/h}(\text{tratamento})}{n^{\circ}\text{células/ml/h}(\text{controlo})} \times 100 \quad (\text{Eq. 2.9})$$

2.2.6. Análise estatística

O valor de EC₅₀, e respetivo intervalo de confiança a 95%, para a inibição de bioluminescência em *V. fischeri* foi calculado pelo software MicrotoxOmni Azur (AZUR Environmental, 1998).

Para a inibição de crescimento em *P. subcapitata* os parâmetros EC₅₀, EC₂₀, que correspondem à concentração que causa uma inibição de crescimento de 50 ou 20%, respetivamente, e correspondentes intervalos de confiança a 95% foram determinados para cada amostra de efluente (ET1; ET2 e EB2) através de análise de regressão não linear, ajustando uma equação logística aos dados através do método dos quadrados mínimos (do inglês: "least squares methods"). No caso do ensaio de toxicidade com *L. minor* os valores de EC₅₀ e o EC₂₀, que correspondem à concentração que causa uma inibição de crescimento de 50 ou 20% nas plantas, avaliado pelo número de frondes e pela biomassa seca produzida, foram calculados a partir do software Statistica 12.0, através de análise de regressão não linear, ajustando uma equação logística aos dados pelo do método dos quadrados mínimos.

O valor de EC₅₀, e respetivos intervalos de confiança a 95%, para a imobilização em *D. magna* foi determinado utilizando o método de Probit, com recurso ao software IBM SPSS Statistics 21.

Os valores de EC₅₀ e EC₂₀ para inibição da alimentação em *D. magna* foram determinados através de uma análise de regressão não linear, ajustando uma equação logística aos dados pelo método dos quadrados mínimos.

Para verificar a existência de diferenças significativas entre tratamentos, nos ensaios ecotoxicológicos realizados, efetuou-se uma análise de variância de uma via (ANOVA unifactorial), e no caso de existirem diferenças significativas entre as concentrações, utilizou-se o método de comparações múltiplas de Dunnett, para determinar o valor da concentração máxima sem efeito observável NOEC (do inglês: *No Observed Effect Concentration*) e o valor da concentração mínima com efeito observável LOEC (do inglês: *Lowest Observed Effect Concentration*). Além do teste de Dunnett também se realizou o teste de Tukey (subconjuntos homogêneos) para ajudar a descrever os resultados. A partir dos valores de EC_{50} obtiveram-se as unidades tóxicas (UT), onde $UT=100/EC_{50}$, para uma melhor comparação dos dados.

2.3. Resultados e Discussão

2.3.1. Caracterização físico-química das amostras de efluente têxtil utilizadas

Os efluentes que se usaram nos ensaios de toxicidade foram fornecidos por uma empresa têxtil do centro de Portugal (Tabela 2.4). Foi analisada uma amostra de efluente bruto (EB2) e duas de efluente tratado (ET1 e ET2). Segundo informações da empresa têxtil o Efluente Bruto 2 (EB2) resulta do processo de tingimento. Pode-se dividir este processo em duas etapas, ambas com descarga de água residual. A primeira é um pré-branqueamento, que prepara a matéria-prima para o processo seguinte que é o tingimento. O pré-branqueamento é realizado com peróxido de hidrogénio, a valores de pH entre 10 e 11, e visa remover as ceras, gorduras e produtos de encolagem. Os corantes usados na empresa são 98% deles corantes de cuba, que tingem em meio fortemente alcalino, pH12-14, na ausência de oxigénio, o que se consegue fechando a máquina (cuba) e usando grande quantidade de hidrossulfito como redutor (informação da empresa têxtil). Seguidamente para fixar o corante na fibra tem que se oxidar com um diazocomposto seguido de peróxido de hidrogénio. Assim a água residual resultante deste processo normalmente apresenta um pH alcalino (9-11), com elevados níveis de nitratos resultantes da oxidação, e claro, alguma cor. Contudo, a amostra de efluente apresentava pH ácido, coloração acinzentada, resíduos de fibra, elevada condutividade e espuma característica dos detergentes (Tabela 2.4). Segundo INETI (2000) elevada condutividade, pH ácido, nitratos e cor são características de águas residuais de tingimento com corantes de cuba solubilizados, podendo ser o caso deste efluente testado.

Na tabela 2.4 estão apresentados os efluentes usados nos ensaios de toxicidade e respetivas características físicas e químicas. Comparando os efluentes tratados com o efluente bruto verifica-se que há uma clara melhoria na cor e no pH, contudo os Sólidos Dissolvidos Totais (SDT) e a condutividade aumentam após o tratamento. Os elevados níveis de sólidos dissolvidos podem indicar a presença de sais inorgânicos (cálcio, magnésio, potássio, sódio, bicarbonatos, cloretos e sulfatos) e pequenas quantidades de matéria orgânica dissolvida na água (WHO, 2011), que não foram removidos pelos tratamentos aplicados e que se concentraram. Segundo o Decreto-lei 236/98 de 1 de Agosto, o valor máximo admissível (VMA) de SDT na água é de 1500 mg/l (MA,1998). A condutividade indica a presença de sais dissolvidos e ionizados na água e está proporcionalmente relacionada com a presença de sólidos dissolvidos totais. Estes resultados sugerem a ineficácia do sistema de tratamento aplicado face a todos os constituintes do efluente têxtil. Outra hipótese é que este aumento de SDT resulta do próprio tratamento pois são adicionados flocculantes e reagentes para correção do pH.

Tabela 2.4 – Caracterização dos efluentes usados nos ensaios de toxicidade.

	Efluente Bruto 2	Efluente Tratado 1	Efluente Tratado 2
Aspeto visual	Cor cinza	Cor esverdeada	Cor esverdeada
Cor verdadeira (unidades Platina-Cobalto)	560	156	198
pH	3,33	7,36	6,76
SDT (ppm)	1215	1539	2322
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	2343	3085	4270

Na tabela 2.5 está representada a concentração dos compostos químicos presentes nas amostras de efluente têxtil estudadas (EB2 e ET1). O efluente bruto (EB2) apresenta para todos os componentes uma concentração relativamente superior às registadas no efluente tratado (ET1). Para comparar o efluente bruto com o tratado calculou-se a taxa de remoção para cada constituinte químico e verificou-se uma variação de 20 a 32% na remoção de cada composto (Tabela 2.5), o que indica que o tratamento aplicado na empresa têxtil apresenta uma eficácia semelhante para todos os compostos analisados. Pela observação da tabela 2.5 verifica-se a presença de vários compostos químicos tais como compostos fenólicos, ftalatos, ácidos carboxílicos alifáticos, ácidos carboxílicos aromáticos, aminas, alcanos e álcoois alifáticos (de cadeia linear). Tal como na

caracterização de Pérez *et al.* (2002) a tabela 2.5 apresenta vários compostos da classe dos nonilfenóis e seus produtos de degradação, que são muitas vezes utilizados como agentes tensioactivos/surfactantes na preparação das fibras têxteis. O nonilfenol faz parte da lista de substâncias prioritárias da Diretiva 2008/105/CE, de 16 de Dezembro de 2008, que deriva da Diretiva-Quadro da Água (DQA) (CE, 2008), contudo os valores registados não ultrapassam os valores da Norma de Qualidade Ambiental (NQA) expressa em concentração máxima admissível para águas de superfície, 2 µg/l. Apenas no EB2 a concentração de nonilfenol ultrapassa os valores da NQA expressa em valor médio anual, 0,3 µg/l. Relativamente ao grupo de compostos fenólicos foram detetados derivados do *Ionol* (2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol) e do *bisfenol A*, compostos usados como aditivos em plásticos e borrachas. Pesquisas recentes apontam que os compostos derivados do *bisfenol A* são similares ao estrogénio, levantando sérias preocupações sobre os efeitos para as populações, uma vez que é um composto muito utilizado nos países industrializados (Castillo e Barceló, 1997). Castillo e Barceló (2001) apontam os compostos *butil-octil-ftalato* e *diisooctil ftalato* como os compostos mais tóxicos da amostra de efluente têxtil não tratado. As aminas e os álcoois alifáticos (de cadeia linear) são usados na produção de corantes e produtos têxteis e como solventes e agentes anti espuma, respetivamente (Castillo e Barceló, 2001).

O fenol geralmente é usado como desinfetante e na produção de resinas fenólicas, de bisfenol A e de caprolactama (Sharma *et al.*, 1997). Tišler e Zagorc-Končan (1997) avaliaram a toxicidade do fenol em vários organismos aquáticos e provaram que este é mais tóxico para o peixe *Oncorhynchus mykiss* ($EC_{50,48\text{horas}}=13,1$ mg/l), seguido do crustáceo *Daphnia pulex* ($EC_{50,48\text{horas}}=25$ mg/l) da alga *Scenedesmus quadricauda* ($EC_{50,24\text{horas}}=403$ mg/l), e por fim, os organismos mais resistente corresponde a uma cultura de bactérias ($EC_{50,120\text{horas}}=510$ mg/l). Estes investigadores também avaliaram a toxicidade do formaldeído, que se apresentou mais tóxico para o crustáceo, seguidamente para a alga e por fim para a cultura de bactérias. Estes resultados, ainda que referentes a substâncias individuais que entram na composição química dos efluentes, e não aos efluentes em si, reforçam a importância de uma avaliação toxicológica a partir de diferentes grupos taxonómicos, pois a sensibilidade de cada um varia de acordo com os diferentes componentes de um efluente (Tišler e Zagorc-Končan, 1997). Nas amostras de efluentes analisadas encontraram-se 0,0325 µg/l no EB2 e 0,0250 µg/l de fenol no ET1, valores abaixo do valor limite de emissão (VLE) na descarga de águas residuais, 0,5 mg/l C_6H_5OH , referido no Decreto-lei 236/98, de 1 de Agosto (MA, 1998). Comparando os valores de fenol apresentados nas amostras de efluente (Tabela

2.5) com os valores de toxicidade do estudo de Tišler e Zagorc-Končan (1997) constata-se que tanto o efluente bruto como o tratado não representam um risco ecotoxicológico para peixes e crustáceos, no que refere à concentração deste composto.

O *triclosan* é usado como agente antimicrobiano e antifúngico. Orvos *et al.* (2002) avaliaram a toxicidade do *triclosan* para microrganismos, algas e para a planta aquática *Lemna gibba*. O composto que é utilizado para inibir o crescimento dos microrganismos não se apresentou tóxico para os microrganismos usados em sistemas de tratamento de águas residuais, em concentrações menores que a sua solubilidade aquosa. Pelo contrário, as espécies de algas estudadas apresentaram elevada vulnerabilidade a este composto, como no desenvolvimento da biomassa em *Scenedesmus subspicatus*, com um valor de EC_{50} às 96 horas de 0,7 µg/l e em *Anabaena flos-aquae* com um EC_{50} de 0,97 µg/l. A planta aquática *Lemna gibba* apresentou-se mais resistente com um EC_{50} superior a 62,5 µg/l (Orvos *et al.*, 2002). Os valores de *triclosan* (Tabela 2.5) registados no EB2 e no ET1 são inferiores aos valores de EC_{50} reportados por Orvos *et al.* (2002).

A maioria dos compostos químicos obtidos a partir da análise química não constam da legislação, nomeadamente da Diretiva 2008/105/CE, de 16 de Dezembro de 2008 (CE, 2008), nem do Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto (MA, 1998). Contudo, não existe informação da perigosidade destes compostos e dos possíveis efeitos sinérgicos sobre os meios recetores, mesmo em baixas concentrações.

Tabela 2.5 – Composição química analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa das amostras de efluente têxtil (EB2 e ET1).

Constituinte	Efluente Bruto 2 (µg/l)	Efluente Tratado 1 (µg/l)	Percentagem de Remoção (%)
Fenol	0,0325	0,0250	23,08
Hexamina	0,0396	0,0299	24,49
Etil-tetrametil-heptano	0,0198	0,0140	29,29
2,6-terc-butil-quinona	1,6186	1,2036	25,64
Tetrametil-dodecano	0,0205	0,0145	29,27
Ionol (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol)	0,0156	0,0112	28,21
Dietilftalato	0,0932	0,0730	21,67
Nonilfenol	0,3637	0,2657	26,95
Ácido 3,5-di-terc-butil-4-hidroxi-benzóico	0,0336	0,0233	30,65
2,6-Di-terc-butil-4-etil-fenol	1,6874	1,2336	26,89
2,6-Di-terc-butil-4-metoximetil-fenol	0,0195	0,0145	25,64
Dimetil-carboximetil-hexil ftalato	0,2579	0,1951	24,35
Octadecano	0,1136	0,0802	29,40
Butil-2-etil-hexil-ftalato	0,1559	0,1118	28,29
Ácido benzóico, éster de fenil	0,3127	0,2451	21,62
2,2-dimetil-2-fenil-acetofenona	0,0159	0,0116	27,04
Butil-octil-ftalato	0,2153	0,1490	30,79
4,4 '-metilenobis-fenol	0,0205	0,0150	26,83
Benzil-quinolina	0,0156	0,0116	25,64
Docosano	0,0191	0,0140	26,70
Acetil tributil citrato	0,0794	0,0600	24,43

Tabela 2.5 (Continuação) – Composição química analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa das amostras de efluente têxtil (EB2 e ET1).

Constituinte	Efluente Bruto 2 (µg/l)	Efluente Tratado 1 (µg/l)	Percentagem de Remoção (%)
Triclosano	0,0336	0,0242	27,98
7-(dietilamino)-4-metil-2H-1-benzopirran-2-ona	0,1300	0,0885	31,92
Benzil-butil-ftalato	0,0299	0,0230	23,08
Ácido fosfórico trifenil	0,2489	0,1884	24,31
Diisooctil ftalato	0,2116	0,1490	29,58
Hexacosano	0,2624	0,1951	25,65
Triacontano	0,6637	0,4685	29,41
Dotriacontane	0,3899	0,2795	28,31

2.3.2. Ensaio de toxicidade com *Vibrio fischeri*, Microtox®

Na Tabela 2.6 estão representados valores de EC_{50} e de EC_{20} para o EB2 e para o ET1. Verifica-se uma elevada toxicidade do EB2 e uma baixa toxicidade para o ET1. No entanto o intervalo de confiança apresentado é muito extenso, não conferindo uma boa viabilidade aos valores apresentados. No entanto, outros autores referiram que quando a cor das amostras permitiu a realização do teste, este mostra uma elevada sensibilidade em efluentes simulados e em efluentes têxteis de diferentes etapas do processamento têxtil (Tigini *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2002). No estudo de Tigini *et al.* (2011) as simulações de efluentes de tingimento (W1 e W2) são menos tóxicas para a bactéria comparativamente ao efluente bruto 2 (EB2) (Tabela 2.6). Um efluente artificial nunca poderá simular um efluente real, uma vez que não é possível conhecer todos os compostos presentes num efluente nem simular as suas interações, assim a menor toxicidade das simulações de efluente de Tigini *et al.* (2011) podem resultar do facto de terem uma composição mais simples. Wang *et al.* (2002) afirmam que o ensaio de bioluminescência pode ser aplicado como um pré-ensaio de avaliação da toxicidade geral dos efluentes.

Tabela 2.6 – Valores de EC_{50} e de EC_{20} (%) para o Efluente Tratado 1 e para o Efluente Bruto 2 relativamente à redução da bioluminescência em *V. fischeri*. Valores entre parêntesis correspondem ao intervalo de confiança de 95%.

	EC_{50}	EC_{20}	Referências
EB2	7,182% (0,42-100)	2,916% (0,152-56)	Presente estudo
ET1	PEME<20% (NT)	PEME<20% (NT)	
W1	36,4 (29,4-45,5)	-	Tigini <i>et al.</i> , 2011
W2	PEME<50% (NT)	-	

(*) W1 – simulação da água residual de tingimento da lã (pH5); W2 – simulação da água residual de tingimento do couro (pH5).PEME – percentagem de inibição mais elevada; NT- não tóxico.

2.3.3. Ensaio de inibição do crescimento com *Pseudokirchneriella subcapitata*

Na Figura 2.4 verifica-se que a taxa de crescimento da alga *P. subcapitata* varia de acordo com as diferentes diluições do EB2 e as concentrações mais altas apresentam uma percentagem de inibição de aproximadamente 30%. Os resultados do ensaio de inibição de crescimento em *P. subcapitata* para o EB2 apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$; $F = 133,560$ e $g.l. = 8,31$) (Tabela I.1 do Anexo I). Todas as concentrações apresentaram diferenças significativas em relação ao controlo (Tabela I.2 do Anexo I). Os resultados foram agrupados em 4 subconjuntos homogêneos pelo teste de Tukey HSD (Tabela I.3 do Anexo I), em que o controlo está no grupo 4, a concentração de 56,45 e 62,09% no grupo 3, a concentração de 51,3; 82,6; 75,1 e 68,3% no grupo 2, e as concentrações de 100 e de 90,9% no grupo 1.

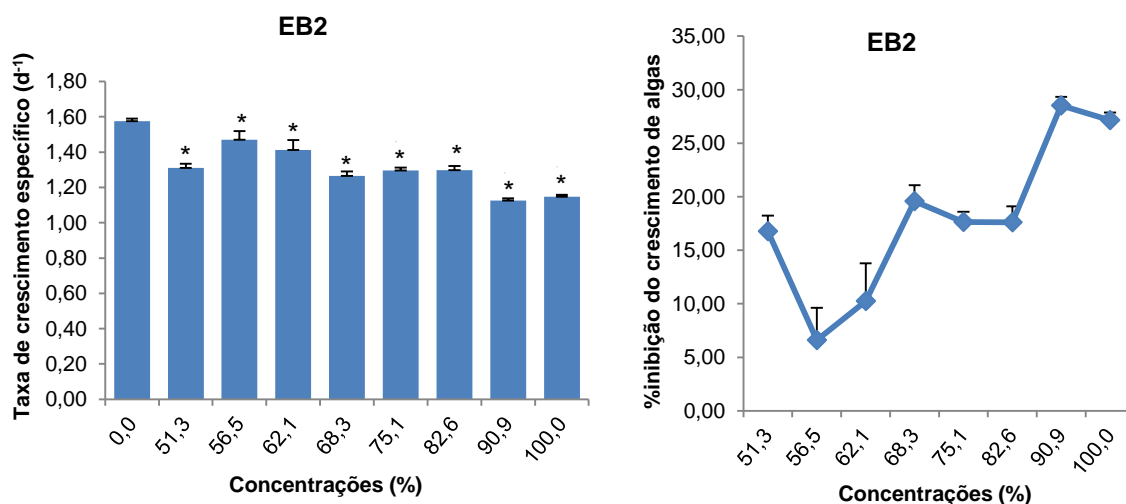


Figura 2.4 – Taxa de crescimento específico (dias⁻¹) (esquerda) e percentagem de inibição do crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata* (direita) para diferentes diluições do Efluente bruto 2 (EB2). As barras de erro correspondem ao desvio padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

Apesar de graficamente (Figura 2.5) não se notarem grandes diferenças na taxa de crescimento específico entre as diferentes concentrações, a análise estatística revela diferença significativa entre os resultados ($p < 0,05$; $F = 135,836$ e $g.l. = 8,31$) (Tabela I.1 do Anexo I). Todas as concentrações com a exceção da 89,00% e 94,34% apresentam diferenças significativas em relação ao controlo (Tabela I.2 do Anexo I). Os resultados foram agrupados em 7 subconjuntos homogêneos pelo teste de Tukey HSD, o que indica a elevada heterogeneidade entre as diferentes concentrações na taxa de crescimento específica da *P. subcapitata* (Tabela I.3 do Anexo I). Pela análise dos gráficos da Figura 2.5 verifica-se que nas concentrações mais baixas testadas (66,51; 70,50 e 74,73%) há uma estimulação no crescimento das algas, o que significa que este efluente tem um elevado potencial para causar eutroficação no meio recetor, sobretudo diluído, pois minimiza o efeito dos contaminantes que possui e potencia os efeitos dos nutrientes. Calabrese (2008) refere que de facto a estimulação do crescimento das algas pode prever o potencial de eutrofização do efluente e salienta a importância de se considerar este fenómeno numa avaliação ecotoxicológica, dando-lhe a mesma relevância que é dada aos efeitos inibitórios.

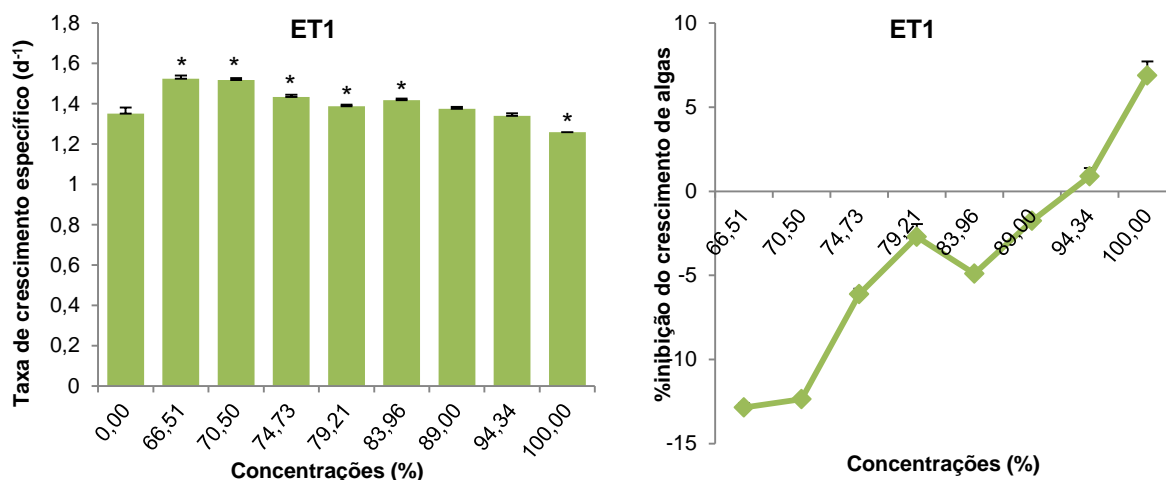


Figura 2.5 – Taxa de crescimento específico (dias⁻¹) (esquerda) e percentagem de inibição do crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata* (direita) para diferentes diluições do Efluente tratado 1 (ET1). As barras de erro correspondem ao desvio padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

No efluente tratado 2 observa-se uma ligeira inibição do crescimento apenas a partir da concentração de 74,73% (Figura 2.6). Para o ET2 também existem diferenças significativas entre os resultados ($p < 0,05$; $F = 156,003$ e $g.l. = 8,31$) (Tabela I.1 do Anexo I). Todas as concentrações com a exceção das concentrações mais baixas, 66,51 e 70,50%, apresentaram diferenças significativas em relação ao controlo (Tabela I.2 do Anexo I). O valor de NOEC (concentração máxima sem efeito observável) é 70,50% e o valor de LOEC (concentração mínima com efeito observável) é 74,73%. Neste caso, os

resultados foram agrupados em 6 subconjuntos homogêneos pelo teste de Tukey HSD (Tabela I.3 do Anexo I).

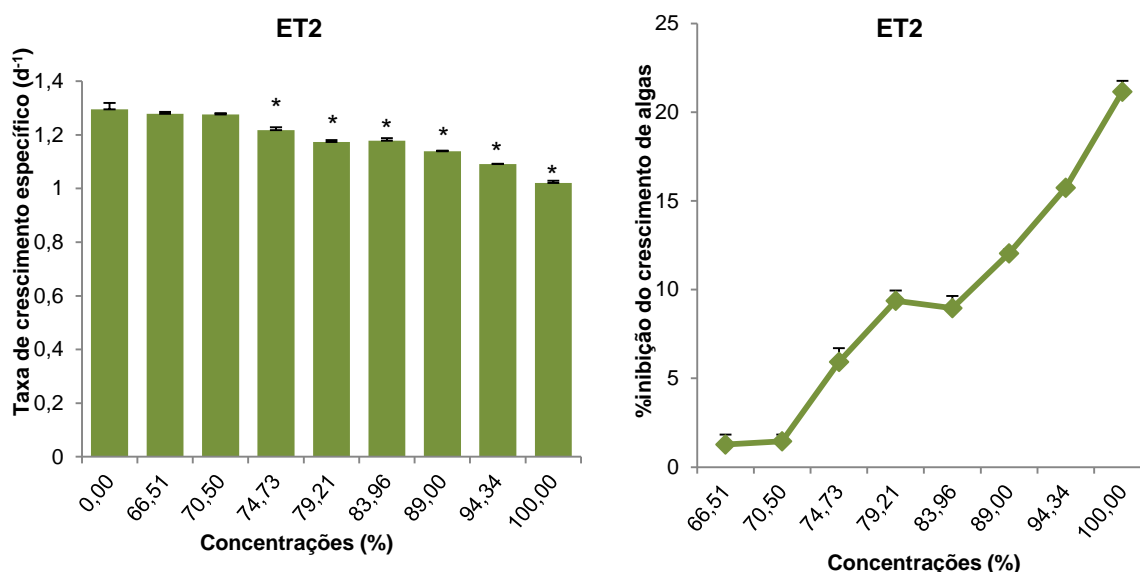


Figura 2.6– Taxa de crescimento específico (dias⁻¹) (esquerda) e percentagem de inibição do crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata* (direita) para diferentes diluições do Efluente tratado 2 (ET2). As barras de erro correspondem ao desvio padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

A inibição do crescimento de *P. subcapitata* nas amostras de efluente testadas foi mais significativa para o EB2, com um valor de EC₂₀ (%) de 79,5, seguido do ET2, com um valor de EC₂₀ (%) de 98,5 e do ET1, com um valor de EC₂₀ (%) superior a 100% (Tabela 2.7). Comparando a toxicidade do efluente bruto EB2 com as simulações de água residual de tingimento de Tigini *et al.* (2011) (Tabela 2.7), verifica-se que a amostra do presente estudo apresenta uma toxicidade muito mais baixa. Estas simulações de efluentes têxteis, apesar de serem vantajosas a nível laboratorial, não são representativas da toxicidade dos efluentes têxteis reais, pois estes são uma mistura complexa de compostos químicos que podem exercer efeitos aditivos, sinérgicos e antagonísticos sobre os organismos aquáticos. Além disso a qualidade dos efluentes têxteis pode ser variável ao longo do tempo, não sendo possível de simular essa variação laboratorialmente. No caso do estudo de Tigini *et al.* (2011) a simulação W3 foi a mais tóxica, revelando a toxicidade dos corantes reativos e do Na₂SO₄. Vários investigadores referem que os corantes são menos tóxicos que outros componentes típicos dos efluentes têxteis como surfatantes, metais, sais, ácidos e alcalinos (Galassi e Benfanati, 2000 e Sharma *et al.*, 2007). Contudo, segundo um modelo que prevê a toxicidade resultante da interação entre misturas, o modelo da adição de concentração, Tigini *et al.* (2011) constataram que no ensaio de toxicidade em *P. subcapitata*, os corantes isoladamente apresentaram uma maior toxicidade do que o sal (Na₂SO₄) sozinho. E os

dois compostos combinados mostraram um efeito antagonista moderado, uma vez que a toxicidade da mistura foi inferior (-29%) à adição da toxicidade dos poluentes individuais. Pelo contrário um outro modelo, o da ação independente mostra um efeito sinérgico elevado entre os corantes e o sal, uma vez que a toxicidade da mistura foi 135% maior que o esperado. Neste sentido, a remoção da toxicidade do efluente tratado poderá ter resultado exatamente de uma remoção de vários compostos entre os quais, corantes orgânicos.

Tabela 2.7 – Valores de EC_{50} para o Efluente Bruto 2 (EB2) e para os Efluentes Tratados 1 e 2 (ET1 e ET2) relativamente à percentagem de inibição do crescimento de *P.subcapitata*. Comparação dos valores deste estudo com bibliografia.

	EC_{50} (%)	Intervalo de Confiança 95%	EC_{20} (%)	Intervalo de Confiança 95%	Referências
EB2	PEME<50% (NT)	-	79,5	71,5-87,5	Presente estudo
ET1	PEME<50% (NT)	-	PEME<20% (NT)	-	
ET2	PEME<50% (NT)	-	98,5	96,8-100,3	
W1	18,8	16,6-21,1	-	-	Tigini <i>et al.</i> , 2011
W2	17,7	10,8-24,6	-	-	
W3	2,2	1,9-2,5	-	-	
W4	31,7	23,6-39,7	-	-	

(*) W1 – simulação da água residual de tingimento da lã (pH5); W2 – simulação da água residual de tingimento do couro (pH5); W3 – simulação da água residual de tingimento com corantes reativos do algodão (pH10); W4 – simulação da água residual de tingimento com corantes diretos do algodão (pH9). .PEME – percentagem de inibição mais elevada; NT – não tóxico.

2.3.4. Ensaio de inibição do crescimento com *Lemna minor*

O primeiro ensaio de toxicidade com *Lemna minor* para o Efluente Bruto 2 foi realizado sem ajuste de pH e, uma vez que este efluente apresenta um valor de pH de 3,07, houve uma total inibição do crescimento e do desenvolvimento das frondes em todas as concentrações testadas, sendo que estas apresentavam ao fim dos 7 dias de ensaio uma coloração branca (ver Tabela II.1 do Anexo II).

O segundo ensaio já foi realizado com ajuste de pH do EB2, que se pode verificar na Tabela II.2 do Anexo II, de modo a verificar o efeito tóxico do efluente e não o efeito do valor de pH da solução. A tabela II.2 do Anexo II apresenta os valores de pH, o número de frondes e a biomassa seca no início e no final do ensaio de inibição do crescimento em *L. minor* para o Efluente Bruto 2 (EB2). Na Figura II.1 do Anexo II está apresentada a

fotografia de uma réplica de cada concentração ao fim dos sete dias de ensaio. Na Figura 2.7 está representada a taxa crescimento específico e a taxa de inibição de crescimento das frondes quando expostas a diferentes diluições do efluente EB2, que sofreu um ajuste do pH para valores entre 6 e 7. Verificou-se que as concentrações que apresentaram maior percentagem de inibição foram as de 71,4% e de 100%, com 19 e 58% de inibição, respetivamente.

A partir de análise dos dados pelo teste unifactorial de variância (ANOVA) as concentrações testadas apresentam diferenças significativas entre si ($p < 0,05$; $F = 69,76$ e $g.l. = 5,17$) (Tabela II.5 do Anexo II). As concentrações significativamente diferentes do controlo ($p < 0,05$) são 71,4 e 100% (Tabela II.6 do Anexo II). O valor de NOEC é de 51,0% e o de LOEC é de 71,4% (Tabela II.6 do Anexo II).

O teste de Tukey (Subconjuntos homogêneos) agrupa os resultados em 3 grupos (Tabela II.7 do Anexo II) O grupo 3 compreende os valores médios da taxa de crescimento iguais ao controlo (0; 26; 36,4 e 51%), enquanto os grupos 1 (100%) e 2 (26; 51 e 71,4%) apresentam valores médios diferentes do controlo e diferentes entre si.

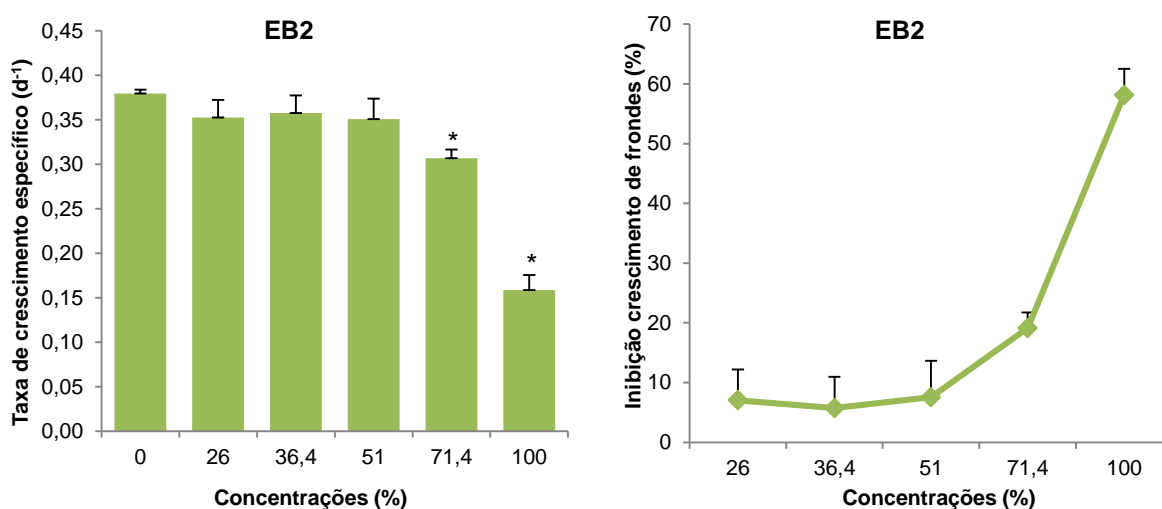


Figura 2.7 – Taxa média de crescimento específico (dias⁻¹) (esquerda) e inibição de crescimento (direita) do número de frondes para as diferentes diluições de Efluente Bruto2 (EB2) com ajuste de pH. As barras representam o desvio-padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

Em relação ao desenvolvimento da biomassa seca (Figura 2.8) também foram as duas concentrações mais elevadas, 71,4 e 100%, que apresentaram maior percentagem de inibição, com 19 e 31%, respetivamente.

Através do teste ANOVA verificaram-se diferenças significativas entre as concentrações testadas ($p < 0,05$; $F = 25,82$ e $g.l. = 5,17$) (Tabela II.5 do Anexo II). As concentrações significativamente diferentes do controlo ($p < 0,05$) são 71,4 e 100% (Tabela II.6 do Anexo II). O valor de NOEC é de 51,0% e o de LOEC é de 71,4% (Tabela II.6 do Anexo II).

O teste de Tukey (Subconjuntos homogêneos) agrupa os resultados em 3 grupos (Tabela II.7 do Anexo II) O grupo 3 compreende os valores médios da taxa de desenvolvimento iguais ao controlo (0; 26; 36,4 e 51%), enquanto os grupos 1 (100%) e 2 (71,4%) apresentam valores médios diferentes do controlo e diferentes entre si.

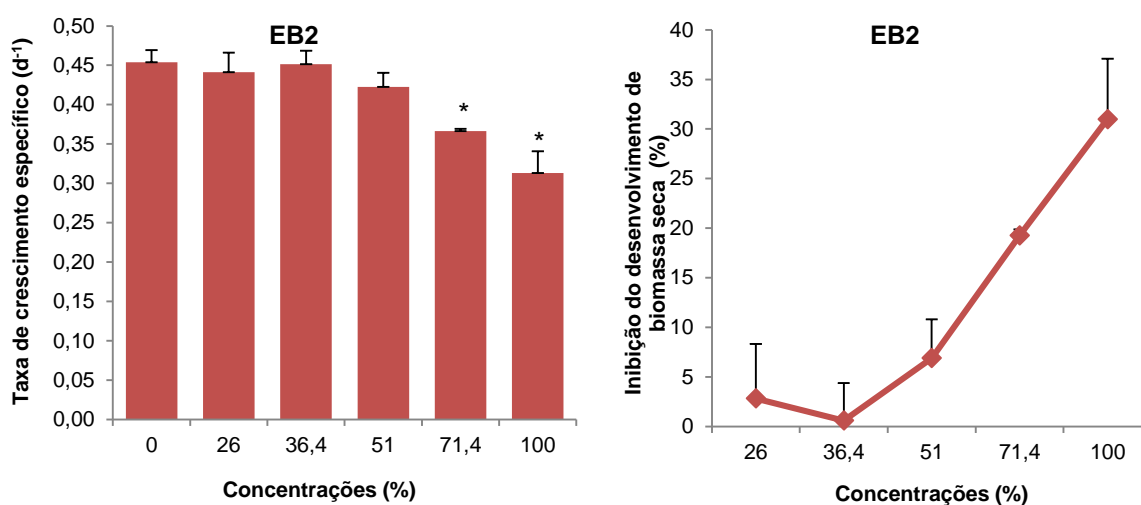


Figura 2.8 – Taxa média de crescimento específico (dias⁻¹) (esquerda) e inibição do desenvolvimento de biomassa seca (direita) para as diferentes diluições de Efluente Bruto 2 (EB2) com ajuste de pH. As barras representam o desvio-padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

O primeiro ensaio de inibição do crescimento em *L. minor* foi realizado para o Efluente Tratado 1 (ET1) e serviu de base para o segundo ensaio ao ET2, pois apenas as diluições de 71,4% e a de 100% causaram inibição no crescimento de frondes, com valores de 4,91% e 98,83%, respetivamente (ver detalhes do ensaio prévio ao ET1 na Tabela II.3 do Anexo II).

O segundo ensaio para o Efluente Tratado, o ET2, tem os valores de pH, do número de frondes e da biomassa seca no início e no final do ensaio de inibição do crescimento em *L. minor*) representados na Tabela II.4 do Anexo II. Na Figura II.2 do Anexo II pode-se visualizar as diferenças entre as várias concentrações ao fim dos sete dias de ensaio.

Para o número de frondes e para a biomassa seca calculou-se a taxa de crescimento específico e a percentagem de inibição de crescimento. Pela observação dos gráficos da Figura 2.9 pode-se afirmar que a partir da concentração de 82,6% de efluente há uma

redução evidente na taxa de crescimento específico em relação ao número de frondes, e consequentemente uma manifesta inibição de crescimento. Na concentração mais baixa (62,1%) verifica-se uma ligeira estimulação na taxa de crescimento específico baseada no número de frondes, que não é estatisticamente significativa. Pela ANOVA verificam-se diferenças significativas entre as concentrações testadas ($p < 0,05$; $F = 303,25$ e g.l.=6,20) (Tabela II.5 do Anexo II). Quando o teste ANOVA rejeita a hipótese nula de igualdade de médias, os testes Post-Hoc permitem identificar quais as médias distintas. As concentrações significativamente diferentes do controlo ($p < 0,05$) são 75,10; 82,6; 90,9 e 100%. Assim, a partir dos dados da tabela do teste Dunnett (comparações múltiplas) (Tabela II.6 do Anexo II) pode-se descobrir o valor de NOEC (concentração máxima sem efeito observável) e o de LOEC (concentração mínima com efeito observável) por comparação com o controlo. O valor de LOEC e NOEC obtidos para o efluente tratado foram de 75,1% e de 68,3%, respetivamente.

O teste de Tukey (Subconjuntos homogêneos) ajuda a descrever os resultados. Pela análise da Tabela II.7 do Anexo II verifica-se os resultados da taxa de crescimento específico das frondes podem ser agrupados em 4 grupos. O grupo 4 compreende os valores médios da taxa de crescimento iguais ao controlo (0; 62,1 e 68,3%), enquanto os grupos 1 (90,9 e 100%), 2 (82,6%) e 3 (75,1 e 68,3%) apresentam valores médios diferentes do controlo e diferentes entre si.

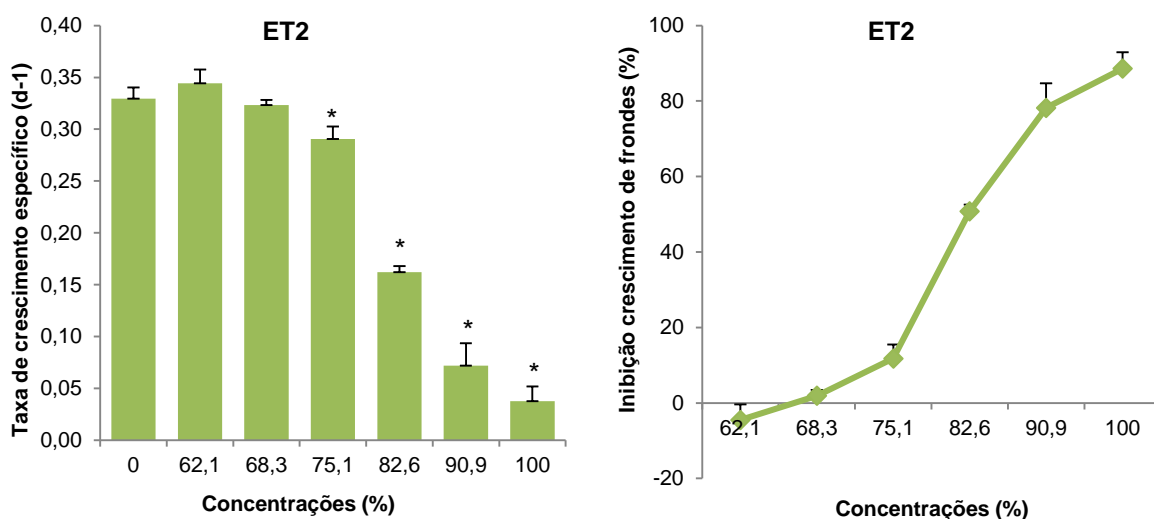


Figura 2.9 – Taxa média de crescimento específico (dias⁻¹) (esquerda) e inibição de crescimento (direita) do número de frondes para as diferentes diluições de Efluente Tratado 2 (ET2). As barras representam o desvio-padrão padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

Em relação à biomassa seca das frondes após os 7 dias (Figura 2.10) não se verificou uma variação tão brusca na taxa de crescimento, como a registada com a avaliação do número de frondes, com o aumento da concentração de Efluente Tratado 2, sendo que a percentagem de inibição de desenvolvimento da biomassa seca não chega a atingir os 50%. No entanto, como se observa na Figura II.1 do Anexo II, a partir da concentração de 75,1% houve uma redução no tamanho e na espessura das frondes. Também se verificou fragmentação das frondes, isto é, a ocorrência de frondes não emparelhadas. Pelo teste ANOVA verificam-se diferenças significativas entre as concentrações testadas ($p < 0,05$; $F = 152,42$ e $g.l. = 6,20$) (Tabela II.5 do Anexo II). As concentrações para as quais se registou uma diminuição significativa da biomassa seca relativamente ao controlo ($p < 0,05$) foram 75,1; 82,6; 90,9 e 100%. Pela Tabela II.6 do Anexo II, que apresenta os dados do teste Tukey (comparações múltiplas), verifica-se que o valor de NOEC é de 62,1% e o de LOEC é de 68,3%.

O teste de Tukey (Subconjuntos homogêneos) está representado na Tabela II.7 do Anexo II, sendo que os resultados da taxa de desenvolvimento da biomassa seca podem ser agrupados em 4 grupos. O grupo 4 compreende os valores médios da taxa de desenvolvimento iguais ao controlo (0; 62,1 e 68,3%), enquanto os grupos 1 (90,9 e 100%), 2 (82,6%) e 3 (75,1%) apresentam valores médios diferentes do controlo e diferentes entre si.

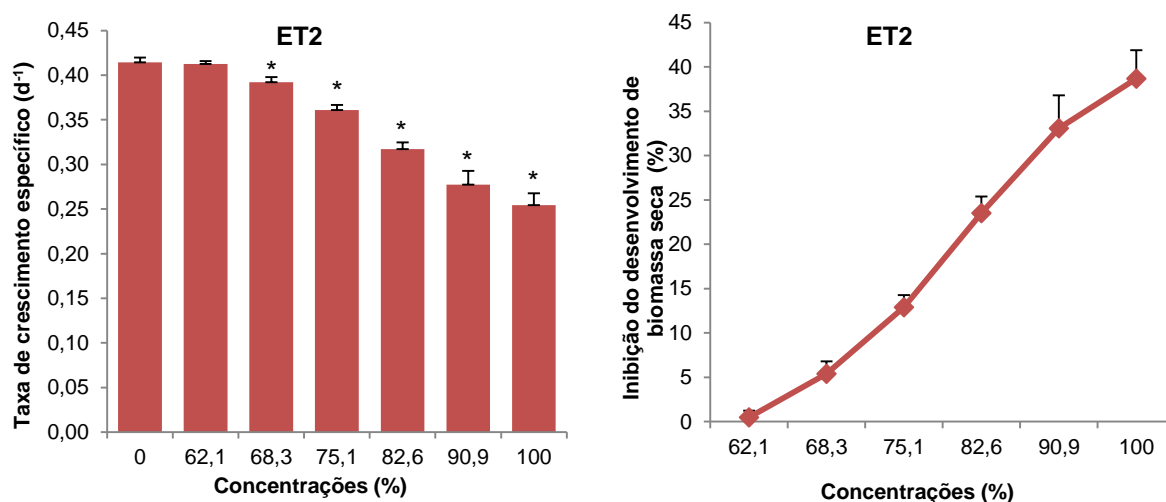


Figura 2.10 – Taxa média de crescimento específico (dias⁻¹) (esquerda) e inibição do desenvolvimento de biomassa seca (direita) para as diferentes diluições de Efluente Tratado 2 (ET2). As barras representam o desvio-padrão padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

A concentração que provoca uma inibição de 50% no crescimento avaliado pelo número de frondes produzidas (EC_{50}) é maior para a amostra de efluente bruto (EB2) do que para

a amostra de efluente tratado (ET2) (Tabela 2.8), o que indica que o efluente tratado é mais tóxico que o bruto para *L. minor*. No entanto, o valor de EC_{20} é mais baixo para o EB2 apesar de ser uma pequena diferença comparativamente ao valor de EC_{20} do ET2. Não foi possível calcular valores de EC_{50} , com base na biomassa seca, para ambos os efluentes, revelando assim que o número de frondes foi o parâmetro mais sensível à toxicidade do efluente têxtil, sugerindo que os efeitos adversos do efluente foram mais severos para a propagação vegetativa das plantas do que, possivelmente, para a fotossíntese que é responsável pela biomassa seca. Um resultado similar foi encontrado por Sharma *et al.* (2007) em efluentes têxteis de diferentes fases do processamento têxtil.

Tabela 2.8 – Valores de EC_{50} e EC_{20} em percentagem de efluente para 95% de confiança para a inibição de crescimento de frondes e para a inibição do desenvolvimento de biomassa seca.

	EB2	ET2
EC_{50} (inibição do crescimento de frondes)	95,73% [91,83-99,64]	82,92% [81,74-84,10]
EC_{50} (inibição do desenvolvimento de biomassa seca)	PEME<50% (NT)	PEME<50% (NT)
EC_{20} (inibição do crescimento de frondes)	74,91% [69,15-80,66]	75,50% [73,63-77,37]
EC_{20} (inibição do desenvolvimento de biomassa seca)	76,83% [65,84-87,82]	80,43% [76,26-84,61]

PEME – percentagem de inibição mais elevada; NT- não tóxico.

Comparando os valores obtidos neste estudo com os referidos na bibliografia (Tabela 2.9) verifica-se que os efluentes reais (presente estudo e Sharma *et al.* (2007)) são mais tóxicos para a planta aquática *Lemna minor* que os efluentes do processo de tingimento estudados por Tigini *et al.* (2011). Pelo estudo de Sharma *et al.* (2011) pode concluir-se que a toxicidade varia com a etapa de que provem a água residual, podendo-se obter diferentes níveis de toxicidade, sendo que as etapas que conferem uma maior toxicidade são as de fixação de corantes, a primeira lavagem e o processo de branqueamento. Tal como se verificou nos efluentes EB2 e ET2 (Figuras II.1 e II.2 do Anexo II) as colónias de *L. minor* expostas aos efluentes de diversas etapas do estudo de Sharma *et al.* (2007) apresentaram, nas maiores concentrações, uma desfragmentação tornando-se colónias com uma única fronde. Também se verificou uma redução no tamanho e na espessura das frondes e perda de raízes. Além destes efeitos em comum Sharma *et al.* (2007) verificaram clorose nas frondes expostas às águas residuais resultante do processo com silicato de sódio e ainda a acumulação de corantes nas frondes e nas raízes da planta.

Tabela 2.9 – Valores de EC₅₀ para a inibição de crescimento de frondes e para a inibição do desenvolvimento de biomassa seca em comparação com outros bioensaios em efluentes têxteis.

Tipo/Origem do Efluente Têxtil	Inibição do crescimento de frondes		Inibição do desenvolvimento de biomassa seca		Referências
	EC ₅₀ (%)	Intervalo de Confiança 95%	EC ₅₀ (%)	Intervalo de Confiança 95%	
EB2	95,73	91,83-99,64	NT	-	Presente estudo
ET2	82,92	81,74-84,09	NT	-	
W1 ^(a)	NT	-	NT	-	Tigini <i>et al.</i> , 2011
W2 ^(b)	NT	-	NT	-	
W3 ^(c)	NT	-	NT	-	
W4 ^(d)	NT	-	NT	-	
Branqueamento, pH ácido ^(e)	23,6	-	28,8		Sharma <i>et al.</i> , 2007
Branqueamento, pH neutro ^(e)	25,7	-	32,0		
Lavagem de telas nas estamparias ^(f)	89,1±71	-	58±10		
Fixação dos corantes ^(g)	1,0±0,8	-	0,7±0,01		
Fixação dos corantes, pH neutro ^(g)	5,0±0,3	-	4,6±0,3		
I Lavagem ^(h)	5,5±4,4	-	55±2,8		
I Lavagem, pH neutro ^(h)	34,6±28,9	-	14,8±2,7		
II Lavagem ^(h)	55,2±3,4	-	-		
III Lavagem ^(h)	107,4±14	-	-		
Reservatório ⁽ⁱ⁾	53,3±31	-	66±23		

(a) W1, simulação da água residual de tingimento da lã (pH5); (b) W2, simulação da água residual de tingimento do couro (pH5); (c) W3, simulação da água residual de tingimento com corantes reativos do algodão (pH10); (d) W4, simulação da água residual de tingimento com corantes diretos do algodão (pH9); (e) água residual resultante do processo de branqueamento com CaOCl₂; (f) água residual resultante da lavagem de telas após a impressão manual; (g) água residual obtida durante o processo de diazotação, no qual os corantes são fixos no tecido impresso mergulhando-o numa mistura de ácido e nitrito de sódio; (h) Lavagens do tecido para remover corantes e produtos químicos (i) águas residuais de diferentes etapas do processamento têxtil são descarregadas no reservatório. NT- não tóxico (Percentagem de inibição mais elevada <50%).

2.3.5. Ensaio Agudo de Imobilização com *Daphnia magna*

O Efluente Bruto 2 foi sujeito a um ajuste de pH nas concentrações de 66,7% e de 100% (Tabela III.3 do Anexo III), de modo a que o efeito tóxico testado, imobilização, não ocorresse devido à acidez do efluente mas sim à sua composição. O intervalo de pH escolhido para o ajuste foi entre 6 e 7.

Na Tabela III.1 do Anexo III está representado o pH no início do ensaio agudo e após 48 horas de exposição às diferentes diluições de efluente. Quanto maior a concentração de efluente menor é o valor de pH e de oxigénio dissolvido. Apesar disso o oxigénio dissolvido apresenta-se para todas as concentrações superior a 3 mg/l, condição necessária para a validação do ensaio (OECD, 2004).

A Tabela III.2 do Anexo III e a Figura 2.11 apresentam o efeito das diferentes concentrações do Efluente Bruto 2 no número de organismos imobilizados e, respetivamente na percentagem de imobilização, para as 24 e 48 horas. Observa-se imobilização a partir da concentração de 19,8% tanto às 24 como às 48 horas de exposição. Às 24 horas verifica-se que imobilização surge na concentração de 19,8% com 10% de imobilização e vai aumentando gradualmente até atingir 100% de imobilização na concentração de 66,7%. Às 48 horas há um aumento exponencial, passa de 15% de imobilização na concentração de 19,8% para 95% de imobilização na concentração de 29,6%, isto indica que o efluente apresenta um EC_{50} entre estas duas concentrações. Tanto às 24 como às 48 horas as concentrações testadas apresentam diferenças significativas, observadas a partir do teste da ANOVA unifactorial, às 24 horas ($F=129,114$; g.l.=7,31 e $p<0,05$) e às 48 horas ($F=178,653$; g.l.=7,31 e $p<0,05$) (Tabela III.3 do Anexo III). Às 24 e às 48 horas as concentrações que apresentam efeito relativamente ao controlo (Teste de comparações múltiplas de Dunnett) são 29,6; 44,4; 66,7 e 100% (Tabela III.4 do Anexo III). O valor de NOEC é de 19,8% e o de LOEC é de 29,6% (Tabela III.4 do Anexo III).

O teste de Tukey (Subconjuntos homogéneos) divide os valores em 4 grupos para as 24 horas e em dois grupos para as 48 horas. O grupo 1 contém as concentrações que são estatisticamente iguais ao controlo (0; 8,8; 13,2; e 19,8%) para ambos os períodos de exposição. Às 24 horas, a concentração 29,6% pertence ao grupo 2, 44,4% ao grupo 3 e 66,7 e 100% ao grupo 4. Para as 48 horas estas 4 concentrações juntam-se no mesmo grupo, indicando que não há diferenças significativas entre elas (Tabela III.5 do Anexo III).

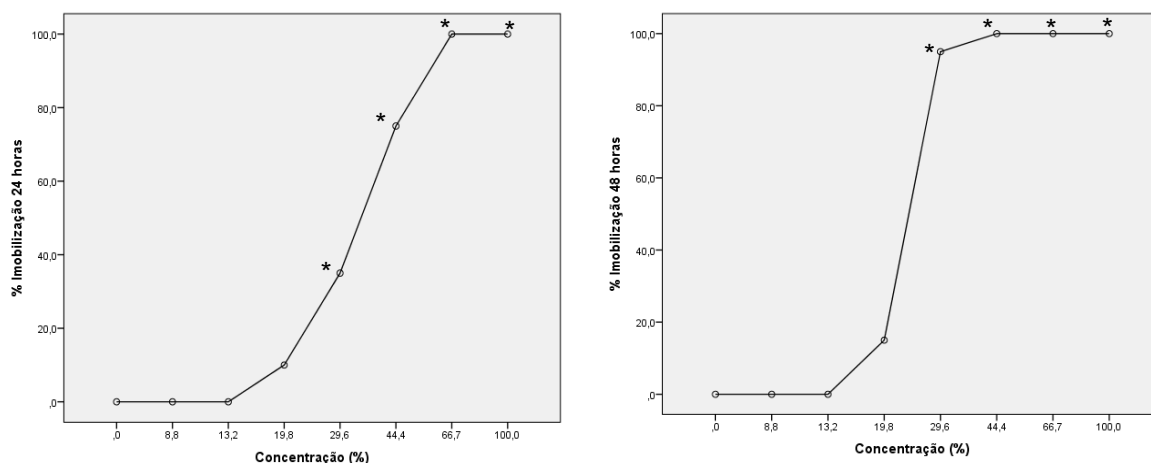


Figura 2.11 – Percentagem de imobilização de *D. magna*, após 24 horas (esquerda) e após as 48 horas (direita) de exposição a diferentes concentrações de Efluente Bruto 2. Os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

A análise de Probit é um método de analisar a relação entre um estímulo (concentração) e a resposta/efeito (percentagem de imobilização) quando a variável estudada é binária, como é o caso da mortalidade. Este tipo de análise tem como objetivo transformar curvas dose-resposta sigmóides em regressões lineares. Assim, a hipótese nula é que não existe regressão linear entre as variáveis transformadas e a hipótese alternativa afirma a existência dessa regressão linear entre as duas variáveis que foram transformadas. O nível de significância do teste é de 5% (Bliss, 1935 e Fisher, 1935). Para verificar a adequação da transformação Log Probit, o *software* estatístico SPSS utiliza o teste do qui-quadrado. Se o nível de significância for inferior a 0,05 o modelo Probit não se ajusta aos dados e se for superior a 0,05 as diferenças entre os valores obtidos e os esperados não são significativas, isto é, o modelo Probit ajusta-se aos dados. Tanto para as 24 horas como para as 48 horas o nível de significância foi superior, revelando a adequação do modelo Probit para descrever a relação concentração de efluente-imobilização em *D. magna* (ver Tabela III.6 do Anexo III). Os valores de EC_{50} e o intervalo de confiança de 95% calculados pela análise Probit estão representados na Tabela 2.10. Verifica-se que uma exposição de 48 horas ao efluente bruto 2 aumenta a percentagem de imobilização em *D. magna* ($EC_{50}=24\%$) comparativamente a uma exposição mais reduzida, 24 horas ($EC_{50}=35\%$). Tigini *et al.* (2011) reportaram distintos valores de EC_{50} para diferentes simulações de efluentes têxteis, levando a concluir que a toxicidade aguda destes efluentes depende muito do tipo e da quantidade de corantes e de produtos químicos utilizados e da etapa de processamento têxtil de que provêm. Por exemplo o uso de corantes reativos no processo de tingimento do algodão (W3) aumenta claramente a toxicidade comparativamente com o uso de corantes diretos (W4) (Tabela 2.10).

Tabela 2.10- Valor de EC₅₀ (%) para a imobilização em *D. magna* do efluente bruto 2 (EB2) para as 24 e as 48 horas e comparação com outros estudos publicados.

	EC ₅₀ (%) - 24 horas	Intervalo de Confiança 95%	EC ₅₀ (%) - 48 horas	Intervalo de Confiança 95%	Referências
EB2	35,489	31,679-40,323	24,177	22,186-26,407	Presente estudo
W1	-	-	12,6	11,1-14,4	Tigini <i>et al.</i> , 2011
W2	-	-	NT	-	
W3	-	-	7,2	5,9-8,8	
W4	-	-	74,4	71,5-77,4	

(*) W1 – simulação da água residual de tingimento da lã (pH5); W2 – simulação da água residual de tingimento do couro (pH5); W3 – simulação da água residual de tingimento com corantes reativos do algodão (pH10); W4 – simulação da água residual de tingimento com corantes diretos do algodão (pH9). NT- não tóxico (Percentagem de imobilização mais elevada <50%).

Na Tabela III.7 do Anexo III está representado os valores de pH no início e no final do ensaio para o Efluente Tratado 1 (ET1), assim como os valores do oxigénio dissolvido (mg/l O₂). Verifica-se que o oxigénio dissolvido em todas as concentrações é superior a 3 mg/l, condição necessária para a validação do ensaio (OECD, 2004). Tanto às 24 como às 48 horas de exposição ao ET1 apenas se observou um organismo imobilizado (ver Tabela III.8 do Anexo III), por isso o EC₅₀ para as 24 e as 48 horas não é calculável pois a percentagem de imobilização mais elevada (PEME) é inferior a 50% de efluente, isto é, os efluentes tratados não apresentaram toxicidade aguda para *D. magna* (Tabela 2.11). Estatisticamente, pelo teste ANOVA unifactorial, não há diferenças significativas entre as concentrações testadas ($p=0,455$; $F=1,00$ e $g.l.=7$). Verma (2008) escolheu três indústrias têxteis, todas com sistema de tratamento dos efluentes, e avaliou a toxicidade pelo ensaio de imobilização em *D. magna*. O efluente T1 provem de uma indústria que usa vários corantes: dispersos, ácidos, básicos, reativos e índigos. A empresa do efluente T2 usa corantes reativos e de cuba e a do efluente T3 usa corante reativo (Verma, 2008). Entre os efluentes tratados estudados por Verma (2008) o T2 poderá ser o mais similar com o ET1 do presente estudo, devido ao uso de corantes de cuba no processo de tingimento. Contudo o efluente tratado (ET1) do presente estudo não apresentou toxicidade, enquanto que o T2 de Verma (2008) apresentou um EC₅₀ de 62,97%, às 48 horas (Tabela 2.11). Apenas o efluente tratado T1 de Verma (2008) apresentou um resultado igual ao efluente tratado do presente estudo, O efluente tratado ET1 (Tabela 2.11) não apresenta toxicidade, enquanto que o efluente bruto apresenta um baixo EC₅₀ (Tabela 2.10), o que indica que o tratamento efetuado pela ETAR desta indústria têxtil

está a ser eficiente na remoção da toxicidade aguda relativamente ao parâmetro toxicológico de imobilização em *D.magna*.

Villegas-Navarro *et al.* (1999) testaram a toxicidade em *D. magna* em efluentes têxteis tratados e não tratados de 5 indústrias e detetaram toxicidade antes e depois do tratamento em todos os casos. Apesar disso, os sistemas de tratamento melhoraram a qualidade dos efluentes, reduzindo a sua toxicidade.

Tabela 2.11– Valor de EC₅₀ (%) para a imobilização em *D. magna* do efluente tratado 1 (ET1) para as 24 e as 48 horas e comparação com outros estudos publicados.

	EC50 (%) - 24 horas	Intervalo de Confiança 95%	EC50 (%) - 48 horas	Intervalo de Confiança 95%	Referências
ET1	PEME<50% (NT)	-	PEME<50% (NT)	-	Presente estudo
Efluente Têxtil T1	>100	-	PEME<50% (NT)	-	Verma, 2008
Efluente Têxtil T2	75,97	[67,04-86,41]	62,97	[55,10-70,63]	Verma, 2008
Efluente Têxtil T3	91,83	[71,34-192,80]	63,04	[47,90–77,59]	Verma, 2008

PEME – percentagem de imobilização mais elevada; NT- não tóxico.

2.3.6. Ensaio subletal de inibição da alimentação em *Daphnia magna*

Na Figura 2.12 verifica-se uma clara redução na taxa de alimentação em *Daphnia magna* com o aumento da concentração de EB2. O EB2 apresentou diferenças significativas nos resultados da taxa de alimentação ($p < 0,05$; $F = 105,652$ e g.l.=8,35) (Tabela IV.1 do Anexo IV). As concentrações de 5,82% e 7,56% não são significativamente diferentes do controlo enquanto que a partir da concentração de 9,83%, todas as concentrações apresentam diferenças significativas relativamente ao controlo (Tabela IV.2 do Anexo IV). O valor de NOEC é 7,56% e o LOEC é 9,83%. Os resultados podem-se dividir em quatro subconjuntos homogêneos segundo o teste de Tukey (Tabela IV.3 do Anexo IV). No grupo 4 estão as concentrações estatisticamente iguais ao controlo (0; 5,82 e 7,65%). As concentrações de 9,83 e 12,785% estão agrupadas no grupo 3. No grupo 2 estão as concentrações de 16,61 e 21,60% e no grupo 1 as de 21,60; 28,08 e 36,50%.

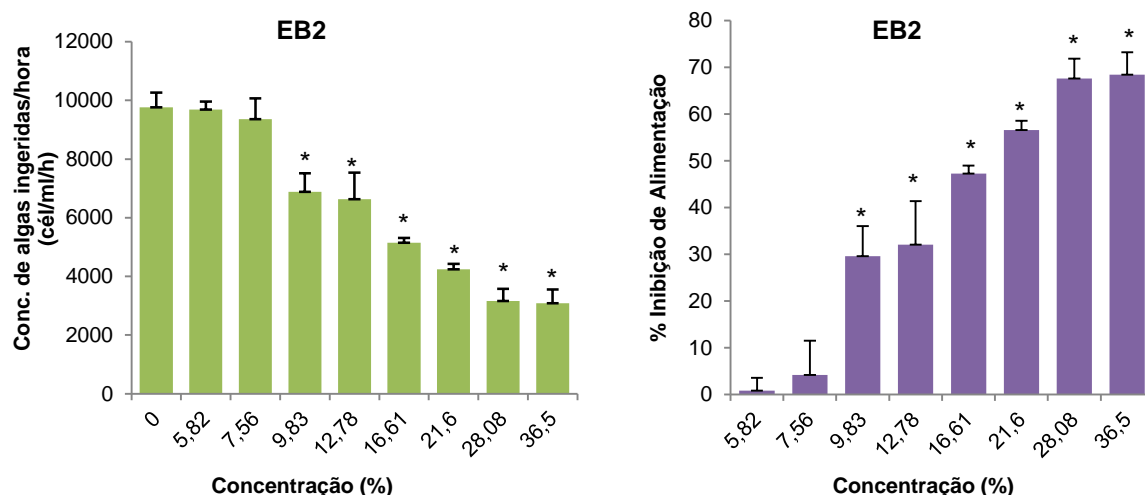


Figura 2.12 – Concentração média de algas ingeridas numa hora (células/ml/h) para as diferentes concentrações de Efluente Bruto 2 em comparação com o controlo (0) (esquerda). Percentagem de inibição da alimentação, relativamente ao controlo, em *Daphnia magna* durante 24 horas de exposição a diferentes concentrações de Efluente Bruto 2 (direita). As barras de erro correspondem ao desvio-padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

O ET1 também apresenta uma elevada inibição alimentar nas concentrações de efluente mais elevadas, como se comprova pelo teste da ANOVA unifactorial aos resultados, que revelam diferenças significativas entre estes ($F=48,05$, $p<0,05$ e g.l.=5,23) (Tabela IV.1 do Anexo IV). As concentrações que apresentam diferenças significativas em relação ao controlo são as de 57,87; 69,44; 83,33 e 100% (Tabela IV.2 do Anexo IV). O valor de NOEC é 48,23% e o LOEC é 57,87%. O teste de Tukey HSD (subconjuntos homogêneos) divide as concentrações em quatro grupos de acordo com o seu efeito na taxa de alimentação pela *D.magna* (Tabela IV.3 do Anexo IV). O grupo 4 contém as concentrações que são estatisticamente iguais ao controlo (0; 48,23%). O grupo 3 contém as concentrações de 48,23 e 57,87%. Ao grupo 2 pertencem as concentrações de 57,87 e 69,44% e ao grupo 1 a de 83,33 e de 100%.

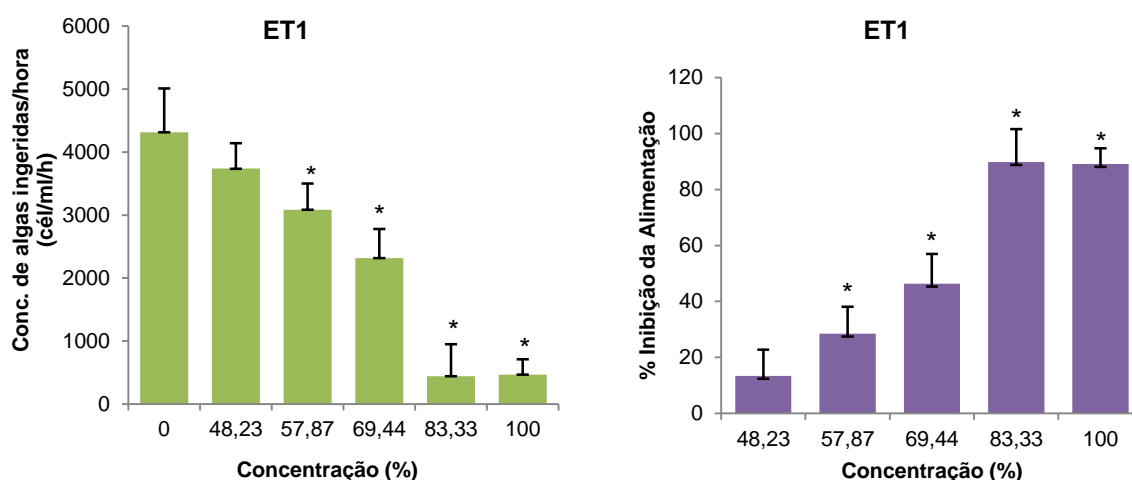


Figura 2.13 – Concentração média de algas ingeridas numa hora (células/ml/h) para as diferentes concentrações de Efluente Tratado 1 em comparação com o controlo (0) (esquerda). Percentagem de inibição da alimentação, relativamente ao controlo, em *Daphnia magna* durante 24 horas de exposição a diferentes concentrações de Efluente Tratado 1 (direita). As barras de erro correspondem ao desvio-padrão e os * correspondem às diferenças significativas (Teste de Dunnett $p \leq 0,05$).

Pelos valores de EC_{50} e de EC_{20} (%) verifica-se que o EB2 é significativamente mais tóxico que o ET1 (Tabela 2.12), o que indica que o tratamento reduz a toxicidade subletal do efluente mas não a elimina. Pelo contrário, no ensaio de toxicidade aguda em *D.magna* o efluente tratado não apresentava toxicidade, o que indica que o tratamento aplicado a este efluente remove a toxicidade aguda mas não remove a toxicidade crónica. Conclui-se então que tanto o efluente tratado como o bruto representam um risco elevado para o meio recetor pois induzem efeitos subletais mesmo a baixas concentrações, que a longo termo podem ter efeitos nas comunidades de organismos aquáticos.

Tabela 2.12 – Valores de EC_{50} e de EC_{20} (%) para o Efluente Tratado 1 e para o Efluente Bruto 2 relativamente à redução na taxa de alimentação em *Daphnia magna*.

	EC_{50} (%)	Intervalo de Confiança 95%	EC_{20} (%)	Intervalo de Confiança 95%	Referências
EB2	18,25	16,02-20,48	8,33	6,42-10,25	Presente estudo
ET1	68,38	63,79-72,96	56,12	49,62-62,62	Presente estudo

2.3.7. Comparação entre a série de ensaio toxicológicos aplicados

A Tabela 2.13 apresenta os resultados dos valores de EC_{50} e das unidades de toxicidade (UT) para todos os parâmetros estudados. Comparando o efluente bruto (EB2) com os efluentes tratados (ET1 e ET2) verifica-se que os últimos apresentam uma menor toxicidade para todas as espécies e para a maioria dos parâmetros testados relativamente ao efluente bruto, indicando a eficácia do sistema de tratamento da indústria têxtil.

A inibição da taxa de alimentação em *D. magna* apresenta-se como um dos parâmetros mais sensíveis para efluentes da indústria têxtil. Também Barata *et al.* (2008) constatou que este parâmetro subletal é mais sensível que os ensaios agudos de toxicidade padronizados quando se pretende avaliar contaminantes industriais. Além disso é um método rápido e barato, podendo ser incorporado em baterias de ensaios para avaliação toxicológica de efluentes industriais.

Um outro parâmetro sensível mas apenas para o efluente bruto foi a inibição da bioluminescência em *Vibrio fischeri*, para o qual se obteve um baixo EC_{50} , 7,18%, ainda que o intervalo de confiança estimado tenha sido grande.

Tigini *et al.* (2011) também usaram uma série de ensaios para avaliar o efeito tóxico de simulações de efluentes têxteis. Em comum com o presente estudo usaram os bioensaios de inibição do crescimento com *P. subcapitata*, de inibição do crescimento em *L. minor*, de imobilização em *D. magna*, e inibição da bioluminescência em *V. fischeri*. A inibição do crescimento em *P. subcapitata* e a imobilização em *D. magna* foram os parâmetros mais sensíveis para estas simulações. Novotný *et al.* (2006) também classificaram esta alga como um bom organismo teste para águas residuais coloridas. No entanto, Cleuvers e Ratte (2002) e Bilinova (2004) afirmaram que é impossível distinguir se a inibição do crescimento é devida à toxicidade química do efluente ou devida ao sombreamento físico dos corantes característicos dos efluentes têxteis. Segundo Tigini *et al.* (2011) é importante considerar não só a toxicidade química mas também a cor como um fator inibidor sobre os organismos fotossintéticos, com a finalidade de uma melhor avaliação do efeito dos efluentes coloridos no ecossistema. Neste sentido talvez seja interessante expressar os parâmetros de toxicidade não apenas em diluições de efluente mas também em unidades de cor. De facto, é importante considerar que aquando da descarga do efluente colorido no ecossistema aquático verifica-se o problema do sombreamento, que pode ser diminuído pela diluição mas não eliminado, por isso é importante o uso de diferentes organismos para uma correta avaliação ecotoxicológica.

Além disso pode usar um outro organismo fotossintético, *Lemna* spp, para melhorar significativamente a avaliação da fitotoxicidade destes efluentes coloridos, uma vez que esta costuma encontrar-se a flutuar à superfície, logo consequentemente não é afetada pela cor do meio de ensaio, permitindo assim distinguir o efeito químico do efeito da cor na fisiologia dos organismos fotossintetizantes. Apesar disso, as algas unicelulares são diferentes, a nível fisiológico, de *L.minor*, não se podendo generalizar a toxicidade para todos os organismos fotossintetizantes. Cleuvers e Ratte (2002) testaram esta hipótese avaliando a inibição no crescimento de frondes usando uma solução de corante “Brilliant Blue R spezia” e verificaram que este inibiu o crescimento das frondes em 20% numa superfície branca, contudo numa superfície preta não houve inibição. A partir da concentração de 100 mg/l de corante já se verificou inibição em ambas as superfícies (Cleuvers e Ratte, 2002), o que permitiu distinguir o efeito causado pela toxicidade química versus o efeito causado pela cor. Comparando a toxicidade dos efluentes testados no presente estudo com as simulações de Tigini *et al.* (2011) constata-se que os efluentes reais são mais tóxicos que as simulações W1, W2 e W4, apenas a simulação W3, composta corantes reativos e pelo sal Na_2SO_4 , foi mais tóxica que os efluentes do presente estudo.

Tabela 2.13 – Valores dos EC₅₀ e das unidades tóxicas (UT) da série de bioensaio realizados às amostras de efluente tratado (ET1 e ET2) e à amostra de efluente bruto (EB2).

	EB2		ET1		ET2	
	EC ₅₀ (%)	UT	EC ₅₀ (%)	UT	EC ₅₀ (%)	UT
Inibição da bioluminescência em <i>V. fischeri</i> , Microtox	7,18 (0,42-100)	13,93	NT	<1	-	-
Inibição do crescimento em <i>P.subcapitata</i>	NT	<1	NT	<1	NT	<1
Inibição do crescimento de frondes em <i>L. minor</i>	95,73 (91,83-99,64)	1,04	-	-	82,92 (81,74-84,09)	1,22
Inibição do desenvolvimento de biomassa seca em <i>L. minor</i>	NT	<1	-	-	NT	<1
Imobilização em <i>D. magna</i>	24,18 (22,19-26,41)	4,14	NT	<1	-	-
Inibição da taxa de alimentação em <i>D. magna</i>	18,25 (16,02-20,48)	5,48	68,38 (63,79-72,96)	1,46	-	-

NT- não tóxico (Percentagem de efeito mais elevada<50%).

Apesar da avaliação toxicológica das amostras de efluentes têxteis ser importante e permitir perceber os principais efeitos deste tipo de efluentes nas comunidades aquáticas, não é possível identificar quais os compostos químicos específicos que causam a toxicidade devido a tratar-se de misturas muito complexas. Galassi e Benfenati (2000) usaram a técnica de Extração em Fase Sólida (SPE) para extrair os produtos químicos orgânicos da amostra, seguida de uma cromatografia HPLC preparativa, que permite fracionar os compostos de acordo com a sua hidrofobicidade. Estes investigadores pretendiam com estas técnicas avaliar a toxicidade em *Daphnia magna* das amostras de efluente têxtil inteiras e das fracionadas de acordo com a sua hidrofobicidade e constataram que os efeitos tóxicos foram maiores na fração mais hidrofóbica (Galassi e Benfenati, 2000). Os micropoluentes orgânicos que são extraídos na técnica de extração em fase sólida (SPE) são geralmente mais persistentes e tóxicos que os que não são retidos, que correspondem a produtos químicos muito polares, facilmente biodegradáveis e apresentam baixa toxicidade para os organismos aquáticos, com exceção de

compostos como pesticidas e biocidas. Assim, geralmente o risco ambiental dos micropoluentes orgânicos aumenta com a hidrofobicidade. A técnica de HPLC dividiu a amostra de efluente têxtil (20%) em 5 frações de acordo com a hidrofobicidade, e Galassi e Benfenati (2000) verificaram uma maior percentagem de imobilização de *D. magna* às 48 horas (100%) para a fração 5, a mais hidrofóbica. A fração 1, 2, 3 e 4 apresentaram, respetivamente, 0, 10, 10 e 30% de imobilização às 48 horas. Os compostos químicos da fração 5, principais responsáveis pela toxicidade do efluente, foram o *bibutilftalato*, *dietilftalato*, *bis(2-etil-hexil)ftalato* e o 4-Nonilfenol (Galassi e Benfenati, 2000). O *dietilftalato* e o 4-nonilfenol estão presentes nas amostras de efluente bruto e tratadas do presente estudo, por isso poderão ter sido estes dois compostos os principais responsáveis pelos efeitos tóxicos nomeadamente o efeito de imobilização e de inibição alimentar em *D. magna*. Os outros dois compostos, *bibutilftalato* e *bis(2-etil-hexil)ftalato* não estão presentes na amostra mas encontram-se outros compostos químicos da classe dos ftalatos que podem também ser os maiores responsáveis pela toxicidade aguda e subletal dos cladóceros.

2.4. Conclusão

Os resultados obtidos nos ensaios toxicológicos confirmam que o efluente bruto (EB2) é tóxico, mas o sistema de tratamento que está a ser efetuado pela empresa têxtil reduz a sua toxicidade significativamente, contudo ainda persiste um nível de toxicidade subletal para os cladóceros. Além da toxicidade subletal pode persistir o potencial de eutroficação do efluente como se observou para o ET1 nas concentrações mais baixas. Isto torna a noção de eficácia do tratamento variável, sendo necessária uma avaliação mais detalhada para perceber quais os compostos causadores desta toxicidade.

A inibição da taxa de alimentação em *D. magna* foi uns dos parâmetros mais sensíveis, sugerindo-se assim, a sua aplicabilidade como complemento de uma bateria de ensaios ecotoxicológicos para a avaliação de efluentes têxteis brutos e tratados. Um outro parâmetro sensível mas apenas para o efluente bruto foi a inibição da bioluminescência em *Vibrio fischeri*, para o qual se obteve um baixo EC_{50} , 7,18%, contudo o intervalo de confiança a 95% foi grande, não permitindo sustentar com firmeza a real toxicidade do efluente, além de que para o efluente tratado não detetou qualquer toxicidade.

Por fim, é necessário salientar a importância da avaliação química e do cumprimento dos limites legais de descargas de águas residuais, contudo esta avaliação por si só não é suficiente pois não fornece informações suficientes sobre os efeitos dos poluentes sobre os organismos no ecossistema. Assim, a realização de ensaios de toxicidade deveria ser

imposta legalmente para validar as descargas de águas residuais, na medida em que estas são misturas complexas e só as espécies biológicas integram os efeitos destas misturas e permitem uma avaliação da sua real perigosidade para os ecossistemas aquáticos.

2.5. Referências Bibliográficas

- Antunes, S.C.F.M. (2001). Variabilidade clonal de respostas crónicas de *Daphnia longispina* a diferentes níveis alimentares. Dissertação de Mestrado em Ciências das Zonas Costeiras, Universidade de Aveiro.
- AZUR Environmental (1998) Microtox Omni Manual. Microbics Corporation, Carlsbad
- Barata, C., Alañon, P., Gutierrez-Alonso, S., Riva, M. C., Fernández, C., e Tarazona, J. V. (2008). A *Daphnia magna* feeding bioassay as a cost effective and ecological relevant sublethal toxicity test for Environmental Risk Assessment of toxic effluents. *The Science of the total environment*, 405(1-3), 78–86.
- Blinova, I. (2004). Use of freshwater algae and duckweeds for phytotoxicity testing. *Environmental toxicology*, 19(4), 425–8.
- Calabrese, E. J. (2008). Hormesis: why it is important to toxicology and toxicologists. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC*, 27(7), 1451–74.
- Castillo, M., Barceló, D. (1997). Analysis of industrial effluents to determine endocrine-disrupting chemicals. *Trends in Analytical Chemistry* 16(10), 574-583.
- Castillo, M., Barceló, D. (2001). Characterisation of organic pollutants in textile wastewaters and landfill leachate by using toxicity-based fractionation methods followed by liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta* 426, 253–264
- CE, Comissão Europeia (2008). Diretiva 2008/105/CE, de 16 de Dezembro de 2008 relativa a normas de qualidade ambiental no domínio da política da água, que altera e subsequentemente revoga as Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE e 86/280/CEE do Conselho, e que altera a Directiva 2000/60/CE. Jornal Oficial das Comunidades Europeias L348, 84-97.
- Cleuvers, M., & Ratte, H. T. (2002). The importance of light intensity in algal tests with coloured substances. *Water research*, 36(9), 2173–8.
- Cleuvers, M., Ratte, H. (2002). Phytotoxicity of coloured substances: is *Lemna* Duckweed an alternative to the algal growth inhibition test?. *Chemosphere* 49, 9–15.
- Eremektar, G., Selcuk, H., e Meric, S. (2007). Investigation of the relation between COD fractions and the toxicity in a textile finishing industry wastewater: Effect of preozonation. *Desalination*, 211(1-3), 314–320.

- Galassi, S., Benfanati, E. (2000). Fractionation and toxicity evaluation of waste waters. *Journal of Chromatography A* 889, 149–154
- INETI, Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial (2000). Guia técnico do sector têxtil. Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial, Lisboa, 1-96.
- MA, Ministério do Ambiente (1998). Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto. Diário da República, Nº 176, 3676-3722.
- McWilliam, R., e Baird, D. (2002). Postexposure feeding depression: a new toxicity endpoint for use in laboratory studies with *Daphnia magna*, *Environmental Toxicology*, 21(6), 1198–1205.
- Novotný, C., Dias, N., Kapanen, A., Malachová, K., Vándrovcová, M., Itävaara, M., e Lima, N. (2006). Comparative use of bacterial, algal and protozoan tests to study toxicity of azo- and anthraquinone dyes. *Chemosphere*, 63(9), 1436–42.
- OECD, Organization For Economic Co-Operation And Development (2006). Guideline 201. Freshwater Alga and Cyanocacteria, Growth Inhibition Test. March, 1-25.
- OECD, Organization For Economic Co-Operation And Development (2004). Guideline 202. *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test. Abril, 1-12.
- OECD, Organization For Economic Co-Operation And Development (2006). Guideline 221. *Lemna* sp. Growth Inhibition Test. March, 1-22.
- Pérez, M., Torrades, F., Domènech, X., Peral, J. (2002). Fenton and photo-Fenton oxidation of textile effluents. *Water Research* 36, 2703–2710.
- Orvos, D.R., Versteeg, D.J., Inauen, J., Capdevielle, M., Rothenstein, A., Cunningham, V. (2002). Aquatic toxicity of triclosan. *Environmental and Chemistry* 21(7), 1338–1349.
- Pérez, M., Torrades, F., Domènech, X., e Peral, J. (2002). Fenton and photo-Fenton oxidation of textile effluents. *Water research* 36(11), 2703–10.
- Puig, A., e Loez, C. R. (2004). An integration of water physicochemistry, algal bioassays, phytoplankton, and zooplankton for ecotoxicological assessment in a highly polluted lowland river, *Water, Air and Soil Pollution* 155, 355–381.
- Sharma, E.A., Barber, J.T., Ensley, H.E., Polito, M.A. (1997). A comparison of the toxicity and metabolism of phenol and chlorinated phenols by *Lemna gibba*, with special reference to 2,4,5-trichlorophenol. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16(2), 346–350.
- Sharma, K. P., Sharma, S., Sharma, S., Singh, P. K., Kumar, S., Grover, R., & Sharma, P. K. (2007). A comparative study on characterization of textile wastewaters (untreated and treated) toxicity by chemical and biological tests. *Chemosphere*, 69(1), 48–54.
- Soares, A.M.V.M. (1989). Clonal variation in life-history traits in *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera). Implications for ecotoxicology. Dissertação de Doutoramento, Universidade de Sheffield, Sheffield, U.K., 162.

- Tigini, V., Giansanti, P., Mangiavillano, A., Pannocchia, A., & Varese, G. C. (2011). Evaluation of toxicity, genotoxicity and environmental risk of simulated textile and tannery wastewaters with a battery of biotests. *Ecotoxicology and environmental safety* 74(4), 866–73.
- Tišler, T. e Zagorc-Končan, J.(1997). Comparative assessment of toxicity of phenol, formaldehyde, and industrial wastewater to aquatic organisms. *Water, Air, and Soil Pollution* 97, 315-322.
- Verma, Y. (2008). Acute toxicity assessment of textile dyes and textile and dye industrial effluents using *Daphnia magna* bioassay. *Toxicology and Industrial Health* 24(7), 491–500.
- Villegas-Navarro, A., González, M.C.R., López, E.R., Aguilar, R.D. e Marçal, W.S. (1999). Evaluation of *Daphnia magna* as na indicator of toxicity and treatment efficacy of textile wastewaters. *Environment International* 25(5), 619-624.
- Whang, C., Yediler, A., Lienert, D., Wang, Z., Kettrup, A. (2002). Toxicity evaluation of reactive dyestuffs, auxiliares and selected effluents in textile finishing industry to luminescent bacteria *Vibrio fischeri*. *Chemosphere* 46, 339-344.
- WHO, World Health Organization (2011). Guidelines for Drinking-water Quality. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 4ª edição, 1-554.

CAPÍTULO 3 - TRATAMENTO DE EFLUENTE TÊXTIL ATRAVÉS DE ADSORÇÃO COM CORTIÇA E COM NANOPARTÍCULAS DE DIÓXIDO DE TITÂNIO

3.1. Introdução

Os efluentes das indústrias têxteis representam uma grande preocupação ambiental, principalmente devido à elevada carga orgânica e à sua cor. O elevado valor de CQO destes efluentes pode originar uma rápida depleção de oxigénio dissolvido nas águas recetoras. Além disso o valor elevado de CQO dá uma indicação da presença de compostos recalcitrantes, possivelmente tóxicos para o biota do meio recetor (Mazumder, 2011). A cor em águas de superfície impede a penetração da luz, uma vez que os corantes absorvem e refletem a luz, o que retarda a atividade fotossintética, inibe o crescimento dos produtores primários afetando as cadeias tróficas da base para o topo (Garg *et al.*, 2004). Devido a estes problemas referidos anteriormente e à sua elevada complexidade química, os efluentes têxteis devem ser tratados antes da descarga no meio ambiente. Contudo os métodos tradicionais envolvem determinadas limitações como custos operacionais elevados, dificuldades na operação, necessidades elevadas de produtos químicos, entre outros, dificultando a sua aplicabilidade (Santos *et al.*, 2007). Alternativamente, a adsorção tem sido investigada como potencial método de tratamento das águas residuais. O principal adsorvente utilizado é o carvão ativado. Porém, este material é caro, variando a sua qualidade com o preço. Considerando este problema, nos últimos anos intensificou-se o interesse pela investigação de adsorventes alternativos, capazes de remover contaminantes indesejáveis a baixo custo (Babel e Kurniawan, 2003). Um exemplo de um promissor adsorvente de baixo custo é a cortiça (Pintor *et al.*, 2012).

A cortiça, casca do sobreiro (*Quercus suber* L.), é uma matéria-prima natural, renovável e biodegradável. A sua composição química é, principalmente, suberina e lignina (biopolímeros hidrofóbicos) e polissacarídeos (celulose e hemicelulose), que possuem um carácter hidrófilo. Esta composição química heterogénea possibilita a formação de ligações com uma grande variedade de poluentes. Por exemplo, a lignina e a suberina, compostos altamente hidrofóbicos, podem assim, atrair compostos hidrofóbicos, tais como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) (Olivella *et al.*, 2011a), uma vez que as regiões hidrofóbicas em suberina e lignina provocam um aumento na capacidade de difusão de compostos hidrofóbicos para a cortiça (Pintor *et al.* 2012).

Até ao momento são poucos os estudos que referem a capacidade de adsorção da cortiça e nenhum estudo focou o uso deste adsorvente em efluentes têxteis. Sendo Portugal o principal produtor de cortiça, a valorização deste subproduto para tratamento

de efluentes têxteis seria uma mais-valia, tanto ao nível da indústria corticeira como ao nível das indústrias têxteis (Pintor *et al.*, 2012).

Além da cortiça as nanopartículas (NPs) também podem ser uma alternativa viável para a adsorção dos poluentes na indústria têxtil devido à sua elevada área superficial. Além desta vantagem consegue-se obter uma elevada taxa de remoção de poluentes com um pequeno volume de adsorvente, gerando assim menos resíduos para descarte. Quanto mais pequeno é o adsorvente mais expostos ficam os átomos livres da superfície do adsorvente criando uma maior possibilidade de ligações entre os grupos funcionais do adsorvente e dos poluentes, fazendo-o com maior reatividade (Engates e Heather, 2011).

As nanopartículas (NPs) de dióxido de titânio têm características importantes que as tornam possíveis adsorventes de águas residuais, como uma elevada área superficial, são física e quimicamente estáveis, de baixo custo, apresentam uma reduzida toxicidade e são resistentes à corrosão (Hung *et al.*, 2007). Relativamente à capacidade de adsorção das nanopartículas (NPs) de dióxido de titânio em efluentes têxteis não existem ainda estudos disponíveis, daí a importância deste estudo. Apenas existem estudos para corantes específicos, como o estudo de Barakat *et al.* (2011) em que foi avaliada a eficiência de remoção do corante, o “Procion yellow H-EXL”, com NPs de TiO_2 através do processo de adsorção e do processo de degradação fotocatalítica, na presença de iluminação UV. A percentagem de remoção do corante foi de 46,4 e de 100% por adsorção e por degradação fotocatalítica, respetivamente (Barakat *et al.*, 2011).

Este estudo teve assim como objetivo geral verificar se a cortiça, um subproduto industrial, tem capacidade de reduzir a toxicidade aguda em *Daphnia magna* de efluentes da indústria têxtil, através da remoção de compostos orgânicos por biossorção. Além da toxicidade avaliou-se a capacidade dos granulados de cortiça na remoção da cor, da condutividade e da CQO. Para isso foram testados vários tempos de contacto, a ausência e a presença de agitação e o efeito de uma pré-lavagem aos granulados de cortiça.

Além da cortiça, neste estudo também se investigou a capacidade de nanopartículas de dióxido de titânio para reduzir a cor, a CQO e a toxicidade aguda em *D. magna* de efluentes têxteis. Neste ensaio de adsorção estudou-se o efeito da concentração de adsorvente e o efeito do tempo de contacto para a capacidade de remoção dos parâmetros descritos atrás.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Caracterização química do efluente têxtil

3.2.1.1. Medição da cor, condutividade, pH e CQO

Para os ensaios de tratamento foram utilizadas 2 amostras de efluente têxtil resultantes do processo de tingimento de uma indústria têxtil do centro do país. A cor das amostras foi determinada num fotómetro C200, que utiliza o método platina de cobalto, considerado como padrão para a medição da cor nas águas potáveis e nas naturais. Primeiramente estabeleceu-se o branco com água desionizada. De seguida, leu-se a amostra filtrada com filtro de fibra de vidro *Whatman* de porosidade 1,2 µm. O resultado no fotómetro é apresentado em unidades de cor. Os valores de pH e de condutividade foram obtidos pelo medidor multiparâmetros portátil HI 991300.

A CQO foi determinada através dos *kits* de marca HANNA HI 93754B-25 Gama média (0-1500 mg/L), utilizando um digestor C9800 da HANNA Instruments, pela adaptação do método 410.4 aprovado pela USEPA, em que a amostra é digerida na presença de dicromato de potássio a 150°C, durante 2 horas. A leitura final da CQO foi realizada num fotómetro multiparamétrico Hanna C214.

3.2.1.2. Análise química do efluente por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS)

As amostras de efluente têxtil, Efluente Bruto 2 (EB2) e Efluente Tratado 1 (ET1), foram concentradas pela técnica de extração em fase sólida (SPE). Para o isolamento e a pré-concentração dos poluentes usaram-se dois adsorventes: o C18 (500 mg, 6 ml) e o estireno divinilbenzeno (200 mg, 6 ml). No cartucho C18 foram adicionados 50 ml da amostra de efluente, que foi acidificada para valores de pH de 3. De seguida foi carregada no cartucho de estireno divinilbenzeno a 15 ml/minuto e foi eluída com 10 ml de uma solução de trietilamina (5mM) e de ácido acético/metanol (5mM) (1:9, v/v), para a dessorção de substâncias aniónicas. Os eluentes utilizados para dessorção foram os seguintes: 2x5 ml de hexano seguido por 2x5 ml de diclorometano/hexano (4:1, v/v) e 2x5 ml de metanol/diclorometano (9:1, v/v). Finalmente, a evaporação total do extrato foi efetuada num fluxo de azoto. Os extratos foram reconstituídos para um volume final de 1 ml de metanol antes da análise.

Para análise das amostras realizou-se uma cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa ("GC-MS") num aparelho de marca Shimadzu, com uma coluna capilar de sílica fundida (DB-17-HT, 30 m×0.25 mm×0.1 µm).

A amostra (0,2 ml) é introduzida, a uma pressão de 15 psi, num fluxo de gás, hélio, denominado gás de transporte. A temperatura do cromatógrafo inicia-se em 40°C e aumenta até os 350°C, a uma velocidade de 8°C/minuto. Os constituintes da amostra são assim separados de acordo com a sua solubilidade e volatilidade na coluna cromatográfica. Quanto maior a solubilidade de um constituinte mais lentamente ele percorre a coluna e quanto maior a volatilidade mais rapidamente percorre o sistema.

As amostras provenientes do cromatógrafo a gás são bombardeadas por um feixe de eletrões e o aparelho regista os fragmentos gerados pelo impacto dos eletrões. A ionização por impacto eletrónico, método de ionização do equipamento de espectrometria de massa, decorreu a uma energia de ionização de 70 eV, temperatura da fonte a 200°C e a temperatura da interface a 350°C.

Para a quantificação foi usada uma série de injeções padrão disponíveis na mesma gama de concentrações da amostra para obter as equações de calibração.

3.2.2. Adsorção com cortiça

3.2.2.1. Ensaios de otimização de adsorção com cortiça

Os ensaios de otimização de adsorção com cortiça tiveram como objetivo testar vários tempos de contato de forma a selecionar o mais adequado. Foram testados 2 adsorventes com diferentes granulometrias, fornecidos pela empresa Corticeira Amorim, (Figura 3.1):

- Granulado 1 (G1) – Granulado de cortiça expandido, com diâmetro de 0,5-3 mm.
- Granulado 2 (G2) - Granulado de cortiça expandido, com diâmetro de 3-5 mm.

Os granulados correspondem a um material negro obtido ao longo do processo de transformação da cortiça na cadeia industrial de produção. Foram submetidos a um tratamento térmico com vapor de água a 400°C, e recolhidos nas fases de corte, trituração, etc.



Figura 3.1 – Adsorventes usados nos ensaios de adsorção, (a) Granulado 1 e (b) Granulado 2.

Além de estudar o efeito de dois adsorventes também se testou o efeito de diferentes tempos de contato: 12, 24, 48 e 72 horas. As experiências foram realizadas em triplicado. Para permitir a comparação dos ensaios usaram-se dois controlos para cada tempo de contacto: o controlo do efluente sem adsorvente e o controlo do adsorvente (em água destilada). O procedimento geral foi o seguinte: (i) a cada recipiente adicionou-se 100 mL de efluente, (ii) mediu-se o pH inicial (ii) adicionou-se 5g de adsorvente, previamente pesado. Periodicamente as amostras foram sujeitas a agitação manual. Terminado o tempo de contacto respetivo, filtrou-se o efluente com gaze de modo a separar o adsorvente da solução de efluente e mediu-se o pH. As amostras foram conservadas no frigorífico a 4°C para posterior determinação dos parâmetros a estudar: cor, condutividade e CQO.

O volume dos granulados de cortiça no início e no final dos ensaios foi determinado num recipiente cilíndrico, sendo medida a sua altura e diâmetro e aplicada a seguinte fórmula: $V = \pi r^2 \times h$, onde V é o volume (cm^3), r é o raio e h é a altura.

3.2.2.2. Ensaios finais de adsorção com cortiça

O procedimento dos ensaios finais de adsorção com cortiça resultou das conclusões retiradas dos ensaios de otimização. Os ensaios foram realizados para um tempo de contato de 72 horas e foram sujeitos a uma agitação de 90 rpm. As experiências foram realizadas em triplicado e usaram-se dois controlos: o controlo do efluente sem adsorvente e o controlo do adsorvente (em água destilada). O procedimento geral foi o seguinte: (i) a cada copo de vidro adicionou-se 100 mL do efluente (ii) mediu-se o pH inicial (ii) adicionou-se 5g de adsorvente, previamente pesado, e tapou-se cada copo com película aderente, (iv) as amostras foram sujeitas a agitação a 90 rpm, (v) depois das 72

horas, filtrou-se o efluente por um filtro de café de modo a separar o adsorvente da solução de efluente e mediu-se o pH. As amostras foram conservadas no frigorífico a 4°C para posterior determinação dos parâmetros a estudar: cor, condutividade e CQO.

Neste ensaio também se testou o efeito de um pré-tratamento aos granulados, a lavagem, para averiguar se este procedimento diminuiu a coloração e os resíduos, que estes acrescentam ao efluente. A lavagem dos granulados 1 e 2 consistiu em sucessivas passagens com água da torneira, seguidas de 3 lavagens em água destilada, ficando os granulados 72 horas em água destilada. Após as 72 horas os granulados foram colocados na estufa a 40°C, durante cerca de 1 semana.

3.2.2.3. Avaliação da toxicidade da cortiça e do efluente tratado com cortiça

A toxicidade inerente da cortiça e do efluente tratado com cortiça foi avaliada pelo ensaio agudo de imobilização com *D. magna*, de acordo com o protocolo 202 proposto pela OECD (2004). Os neonatos, de uma ninhada n3, n4 ou n5, com menos de 24 horas de idade foram expostos a diferentes diluições do efluente teste por um período de 48 horas. A imobilização foi registada às 24 e às 48 horas. Os indivíduos mortos foram sempre retirados dos tubos de ensaio.

Para cumprir o critério de validação definido pela OECD (2004), os grupos controlo não devem exceder 10% de imobilização e a concentração de oxigénio dissolvido deve ser superior a 3 mg/l no controlo e nas soluções teste, durante todo o ensaio.

O ensaio foi realizado em tubos de ensaios, cada um com 5 indivíduos, expostos a um volume de 25ml para cada uma das 4 réplicas das concentrações testadas. O ensaio decorreu a uma temperatura de 20°C, sem adição de alimento. O pH e o oxigénio dissolvido foram medidos no início e no fim do ensaio.

Para o efeito o meio ASTM e o efluente foram submetidos às mesmas condições do ensaio de adsorção, como exemplifica o esquema da Figura 3.2:

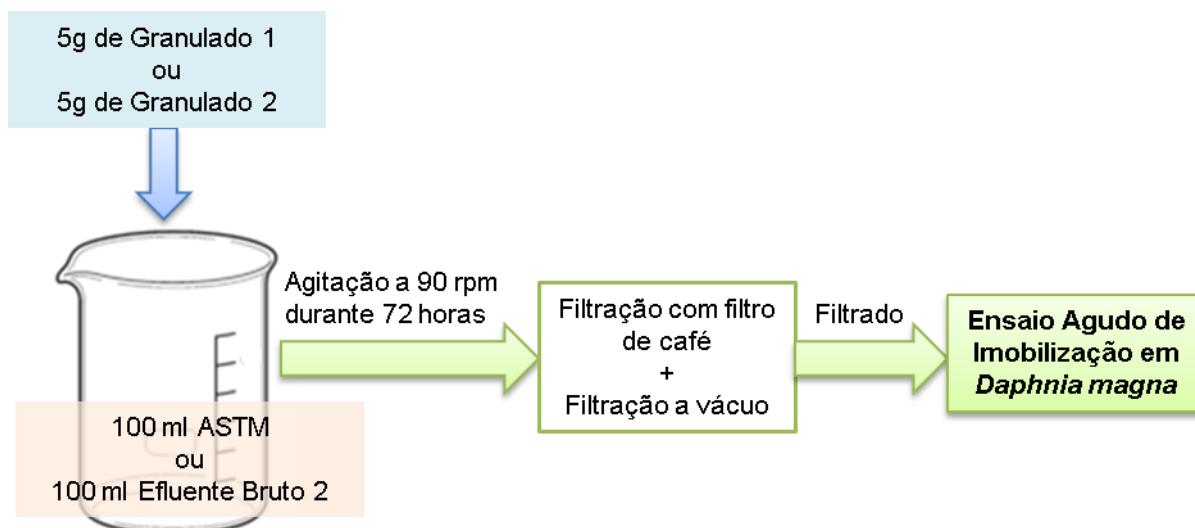


Figura 3.2 – Esquema representativo do procedimento anterior ao Ensaio Agudo de Imobilização em *Daphnia magna*.

Foram realizados 4 ensaios de toxicidade com *Daphnia magna* aos seguintes tratamentos: ASTM com G1; ASTM com G2; EB2 com G1 e EB2 com G2. Para o ASTM as concentrações testadas correspondem a diluições com um fator de diluição de 1,1: 100%; 90,9%; 82,6%; 75,1%; 68,3%; 62,1%; 56,4%; 51,3% e o controlo (0%). No caso do EB2 tratado com G1 ou G2 usou-se um fator de diluição de 1,5: 100%; 66,7%; 44,4%; 29,6%; 19,8%; 13,2%; 8,8% e o controlo (0%).

3.2.3. Adsorção com nanopartículas de dióxido de titânio

3.2.3.1. Ensaios de adsorção com nanopartículas de dióxido de titânio

Os ensaios de adsorção com nanopartículas de dióxido de titânio foram realizados para o efluente bruto 2 (EB2). Os ensaios decorreram sob agitação continua a 300rpm. Foram testadas duas concentrações de adsorvente, 0,1g/l e 1g/l, e diferentes tempos de contacto 30, 60, 120 e 240 minutos. Os ensaios foram realizados em triplicado. No final do tempo estipulado, centrifugou-se o efluente tratado a 4000 rpm durante 5 minutos. As amostras foram conservadas no frigorífico a 4°C para posterior determinação dos parâmetros a estudar: cor, condutividade e CQO.

3.2.2.2. Avaliação da toxicidade do dióxido de titânio e do efluente tratado com dióxido de titânio

Tal como para a cortiça, a toxicidade do dióxido de titânio e do efluente tratado com dióxido de titânio foi determinada através do ensaio agudo de imobilização com *D. magna*, de acordo com o protocolo 202 proposto pela OECD (2004). A um volume de

200ml de ASTM e 200 ml de efluente bruto 2 foi adicionado 0,2 g de dióxido de titânio para obter a concentração de 1g/l, que esteve durante 1 hora sob agitação contínua. Depois do tempo de ensaio terminar testaram-se diferentes concentrações com um fator de diluição de 1,6 (100; 62,5; 39,1; 24,4; 15,3 e 9,5%) para o ASTM com dióxido de titânio e para o EB2 com dióxido de titânio.

Os resultados obtidos durante a caracterização química dos efluentes foram comparados entre tratamentos através de análises de variância (ANOVA) seguidas de testes de comparação múltipla.

O valor de EC_{50} (%), e respectivo intervalo de confiança a 95%, para a imobilização em *D. magna* foi determinado utilizando o método de Probit, com recurso ao software IBM SPSS Statistics 21.

3.3. Resultados e Discussão

3.3.1. Caracterização química dos efluentes têxteis brutos

Os efluentes que se usaram nos ensaios de tratamento foram fornecidos por uma empresa têxtil do centro de Portugal (Tabela 3.1). Segundo informações da empresa têxtil os efluentes resultam do processo de tingimento. Pode-se dividir este processo em duas etapas, ambas com descarga de água residual. A primeira é um pré-branqueamento, que prepara a matéria-prima para o processo seguinte que é o tingimento. O pré-branqueamento é realizado com peróxido de hidrogénio, a valores de pH entre 10 e 11, e visa remover as ceras, gorduras e produtos de encolagem. Os corantes usados na empresa são 98% deles corantes de cuba, que tingem em meio fortemente alcalino, pH12-14, na ausência de oxigénio, o que se consegue fechando a máquina (cuba) e usando grande quantidade de hidrossulfito como redutor. Seguidamente para fixar o corante na fibra tem que ser oxidada com um diazocomposto seguido de peróxido de hidrogénio. Assim a água residual resultante deste processo normalmente apresenta um pH alcalino (9-11), com elevados níveis de nitratos resultantes da oxidação, e claro, alguma cor. O Efluente Bruto 1 (EB1) corresponde à descrição da empresa, tem um pH alcalino, cor e elevada condutividade. Contudo, a amostra de Efluente Bruto 2 (EB2) apresenta pH ácido, coloração acinzentada, resíduos de fibra, elevada condutividade e espuma característica dos detergentes (Tabela 3.1). Segundo INETI (2000) elevada condutividade, pH ácido, nitratos e cor são características de águas residuais de tingimento com corantes de cuba solubilizados, podendo ser o caso deste efluente. Pela

observação da Tabela 3.1 a amostra de EB1 tem uma cor mais intensa e um valor de condutividade maior, o que significa que possui mais sais dissolvidos e ionizados, comparativamente à amostra de EB2.

Tabela 3.1 – Caracterização dos efluentes usados nos ensaios de remediação.

	Efluente Bruto 1	Efluente Bruto 2
Aspeto visual	Cor alaranjada	Cor cinza
Cor verdadeira (unidades Platina-Cobalto)	754	560
pH	10,16	3,33
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	4260	2343

Na Tabela 3.2 está representada a composição química dos efluentes brutos que foram usados nos ensaios de adsorção. O Efluente Bruto 1 (EB1) foi usado no ensaio de otimização da adsorção com cortiça e o Efluente Bruto 2 (EB2) no ensaio final de adsorção com cortiça e no ensaio de adsorção com nanopartículas de dióxido de titânio. O Efluente Bruto 2 apresenta uma concentração maior dos compostos químicos analisados relativamente ao Efluente Bruto 1, estando a diferença percentual representada na Tabela 3.2, contudo a diferença nunca foi superior a 20%. Estes valores sugerem que o EB2 (já testado para a sua ecotoxicidade no Capítulo 2) poderá trazer mais problemas de poluição que o EB1. Os compostos presentes nestes efluentes são semelhantes para outros efluentes têxteis não tratados como os reportados por Pérez *et al.* (2002) e por Castillo e Barceló (2001).

A maioria dos compostos químicos analisados não constam da legislação, nomeadamente da Diretiva 2008/105/CE, de 16 de Dezembro de 2008, que deriva da Diretiva Quadro da Água, e que estabelece normas de qualidade ambiental (NQA) para substâncias prioritárias e outros poluentes (CE, 2008), nem do Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto (MA, 1998). Contudo verifica-se a presença de vários compostos das classes dos nonilfenóis e seus produtos de degradação, sendo que o nonilfenol faz parte da lista de substâncias prioritárias da Diretiva 2008/105/CE, sendo que os valores registados para estas substâncias para ambos os efluentes não ultrapassam os valores da Norma de Qualidade Ambiental (NQA) expressa em concentração máxima admissível para águas de superfície, 2 $\mu\text{g/l}$, contudo ultrapassaram os valores da NQA expresso em valor médio anual, 0,3 $\mu\text{g/l}$. As concentrações de fenol nas amostras de efluente bruto apresentam valores abaixo do valor limite de emissão (VLE) na descarga de águas

residuais, 0,5 mg/l C_6H_5OH , referido no Decreto-lei 236/98, de 1 de Agosto (MA, 1998). Para os restantes compostos não existe informação da sua perigosidade ou estão abaixo dos valores estabelecidos pela lei para descarga de águas residuais ou para a sua presença no meio recetor, contudo não se pode ignorar os possíveis efeitos tóxicos e a perigosidade do efluente devido aos efeitos sinérgicos entre os diferentes compostos, mesmo a baixas concentrações, assim como às suas descargas contínuas para o meio ambiente, onde um efeito cumulativo nas concentrações pode ocorrer.

Tabela 3.2 – Composição química analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa de amostras de efluente têxtil EB1 e EB2.

Constituinte	Efluente Bruto 1 (µg/l)	Efluente Bruto 2 (µg/l)	% Diferença entre EB1 e EB2 ⁽¹⁾
Fenol	0,0288	0,0325	12,85
Hexamina	0,0357	0,0396	10,92
Etil-tetrametil-heptano	0,0173	0,0198	14,45
2,6-terc-butil-quinona	1,3835	1,6186	16,99
Tetrametil-dodecano	0,0173	0,0205	18,50
Ionol (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol)	0,0138	0,0156	13,04
Dietilftalato	0,0840	0,0932	10,95
Nonilfenol	0,3163	0,3637	14,99
Ácido 3,5-di-terc-butil-4-hidroxi-benzóico	0,0288	0,0336	16,67
2,6-Di-terc-butil-4-etil-fenol	1,4180	1,6874	19,00
2,6-Di-terc-butil-4-metoximetil-fenol	0,0173	0,0195	12,72
Dimetil-carboximetil-hexil ftalato	0,2243	0,2579	14,98
Octadecano	0,0955	0,1136	18,95
Butil-2-etil-hexil-ftalato	0,1380	0,1559	12,97
Ácido benzóico, éster de fenil	0,2818	0,3127	10,97
2,2-dimetil-2-fenil-acetofenona	0,0138	0,0159	15,22
Butil-octil-ftalato	0,1840	0,2153	17,01
4,4 '-metilenobis-fenol	0,0173	0,0205	18,50
Benzil-quinolina	0,0138	0,0156	13,04
Docosano	0,0173	0,0191	10,40
Acetil tributil citrato	0,0690	0,0794	15,07

(1) % Diferença= ((EB2-EB1)/EB1)x100

Tabela 3.2 (Continuação) – Composição química analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa de amostras de efluente têxtil EB1 e EB2.

Constituinte	Efluente Bruto 1 (µg/l)	Efluente Bruto 2 (µg/l)	% Diferença entre EB1 e EB2 ⁽¹⁾
Triclosano	0,0288	0,0336	16,67
7-(dietilamino)-4-metil-2H-1-benzopirran-2-ona	0,1093	0,1300	18,94
Benzil-butil-ftalato	0,0265	0,0299	12,83
Ácido fosfórico trifenil	0,2243	0,2489	10,97
Diisooctil ftalato	0,1840	0,2116	15,00
Hexacosano	0,2243	0,2624	16,99
Triacontano	0,5578	0,6637	18,99
Dotriacontane	0,3450	0,3899	13,01

(1) % Diferença= ((EB2-EB1)/EB1)x100

3.3.1. Ensaios de otimização da adsorção com cortiça

Os ensaios preliminares de adsorção visaram avaliar a capacidade da cortiça para remover/ reduzir a cor, a condutividade e a CQO das amostras de efluente têxtil utilizadas e submetidas a diferentes tempos de contacto.

Uma análise bifactorial aos resultados para os parâmetros, cor, condutividade e pH, verificou a ocorrência de diferenças significativas entre tratamentos, para ambos os granulados (Tabela 3.3). A diferença entre tempos de exposição também foi significativa para todos os parâmetros, cor, condutividade e pH. A interação entre o tratamento e os tempos de exposição foi significativa para a cor, a condutividade e pH, o que indica que as diferenças entre os tratamentos estão relacionados aos tempos de exposição à cortiça (Tabela 3.3). No que se refere ao volume do granulado, observaram-se diferenças significativas entre tratamentos para o granulado 1, enquanto que para o granulado 2 não se observaram diferenças significativas. Além disso, não se observaram diferenças significativas entre tempos de exposição e na interação entre o tratamento e os tempos de exposição, quer para o granulado 1, quer para o 2 (Tabela 3.3).

Tabela 3.3 – Resultados das ANOVAs bifactoriais efetuadas aos parâmetros estudados nos ensaios preliminares de adsorção com cortiça para testar o efeito dos fatores tratamento e tempo de exposição.

	F	p	g.l.
Cor Granulado 1			
Tratamento	1864,00	<0,001	2,35
Tempo de Exposição	24,60	<0,001	3,35
TratamentoxExposição	15,56	<0,001	6,35
Cor Granulado 2			
Tratamento	404,98	<0,001	2,35
Tempo de Exposição	4,76	<0,001	3,35
TratamentoxExposição	3,45	=0,009	6,35
Condutividade Granulado 1			
Tratamento	11186,19	<0,001	2,35
Tempo de Exposição	385,03	<0,001	3,35
TratamentoxExposição	95,28	<0,001	6,35
Condutividade Granulado 2			
Tratamento	8742,89	<0,001	2,35
Tempo de Exposição	299,35	<0,001	3,35
TratamentoxExposição	75,26	<0,001	6,35
pH Granulado 1			
Tratamento	2018,90	<0,001	2,35
Tempo de Exposição	10,60	<0,001	3,35
TratamentoxExposição	27,10	<0,001	6,35
pH Granulado 2			
Tratamento	3646,00	<0,001	2,35
Tempo de Exposição	52,10	<0,001	3,35
TratamentoxExposição	114,00	<0,001	6,35
Volume Granulado 1			
Tratamento	13,24	<0,001	2,35
Tempo de Exposição	1,24	=0,316	3,35
TratamentoxExposição	1,19	=0,344	6,35
Volume Granulado 2			
Tratamento	1,45	=0,255	2,35
Tempo de Exposição	1,08	=0,375	3,35
TratamentoxExposição	1,06	=0,412	6,35

Os resultados da cor dos ensaios preliminares estão representados nos gráficos das Figuras 3.3 e 3.4 e verifica-se que os granulados de cortiça acrescentaram cor tanto ao efluente têxtil testado (EB1) como à água destilada (Controlo G1 e Controlo G2).

Verificou-se apenas um ligeiro aumento da cor ao longo do tempo de contacto dos granulados de cortiça com o efluente têxtil, sendo este mais evidente às 72 horas. O granulado 1 acrescentou mais cor tanto à água destilada (Controlo) (Figura 3.5) como ao efluente têxtil (Figura 3.6) em comparação com o granulado 2, pois o granulado 1 apresentou uma granulometria menor e consequentemente uma maior área superficial de contato. Pela observação das Figuras 3.5 e 3.6 também se verificou um aumento evidente de cor dos efluentes tratados com a cortiça em relação ao efluente bruto (Figura 3.7).

A cor conferida à água destilada pelos granulados de cortiça, CTL G1 e CTL G2, não apresentou diferenças significativas ao longo do tempo (G1: $F=0,822$; g.l.=3,11; $p=0,518$; G2: $F=1,024$; g.l.=3,11; $p=0,432$). Isto indica que a libertação de compostos com cor pela cortiça ocorre nas primeiras 12 horas de contacto, mas não há um aumento progressivo com o decorrer do tempo. A cor do efluente sem granulados de cortiça, Controlo EB1, também não sofreu alterações significativamente relevantes ao longo do tempo ($F=1,918$; g.l.=3,11 e $p=0,205$). Quando o efluente está em contacto com os granulados já se verificam diferenças significativas ao longo do tempo (G1: $F=41,395$; g.l.=3,11; $p<0,001$; G2: $F=4,136$; g.l.=3,11 $p<0,05$). Foram comparados os resultados da cor do controlo EB1 com o efluente EB1 tratado (Tabela 3.4) para cada tempo de exposição, uma vez que o controlo de água destilada com cortiça iria forçar as diferenças significativas registadas entre tratamentos. Verifica-se pela observação da Tabela 3.4 que o EB1 tratado é sempre significativamente diferente do CTL do EB1, com exceção do EB2 tratado com G2 às 48 horas.

Tabela 3.4 - Resultados da análise de variância de uma via (ANOVA) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com o granulado 1 ou o granulado 2 para avaliar as variações de cor nos diferentes tempos de exposição.

	Granulado 1			Granulado 2		
	F	P	g.l.	F	P	g.l.
12 horas						
CTL EB1xEB1 tratado	1252,7	$p<0,001$	1,5	116,9	$p<0,001$	1,5
24 horas						
CTL EB1xEB1 tratado	2906,4	$p<0,001$	1,5	105,5	$p<0,001$	1,5
48 horas						
CTL EB1xEB1 tratado	52,6	$p<0,05$	1,5	5,0	$p=0,089$	1,5
72 horas						
CTL EB1xEB1 tratado	370,4	$p<0,001$	1,5	50,8	$p<0,05$	1,5

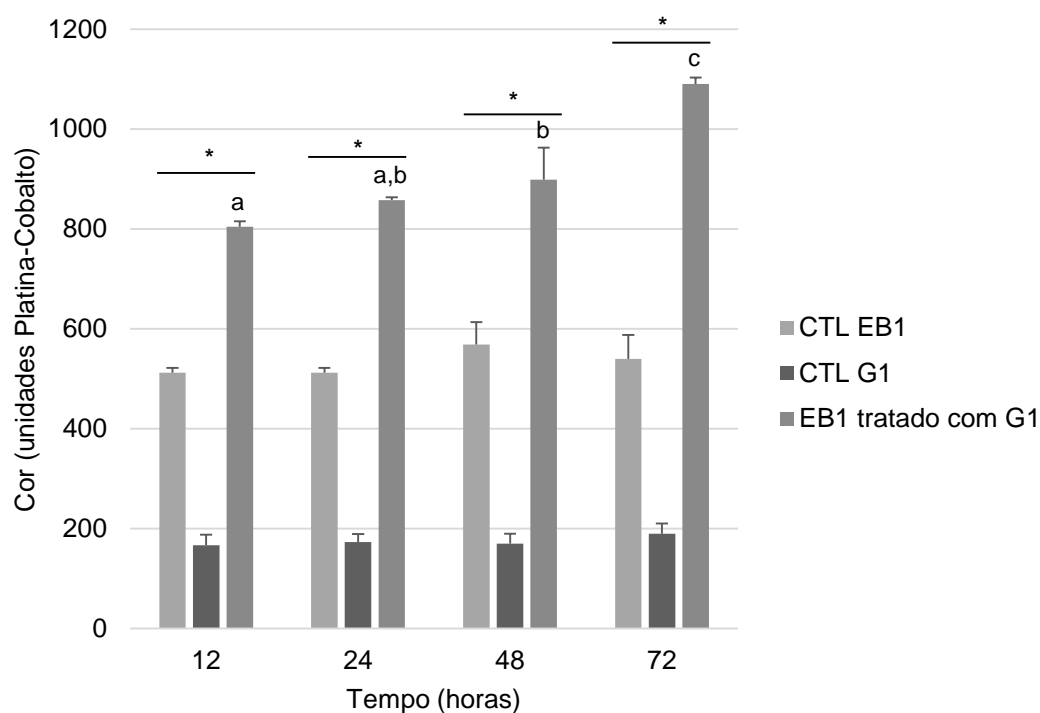


Figura 3.3 - Cor, em unidades de Platina-Cobalto, do efluente têxtil bruto (EB1) tratado com o Granulado 1 (G1) e do controlo do Granulado 1, a diferentes tempos de contacto. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c, representam as diferenças significativas ($p<0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre o controlo do efluente (EB1) e o efluente tratado com G1, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.

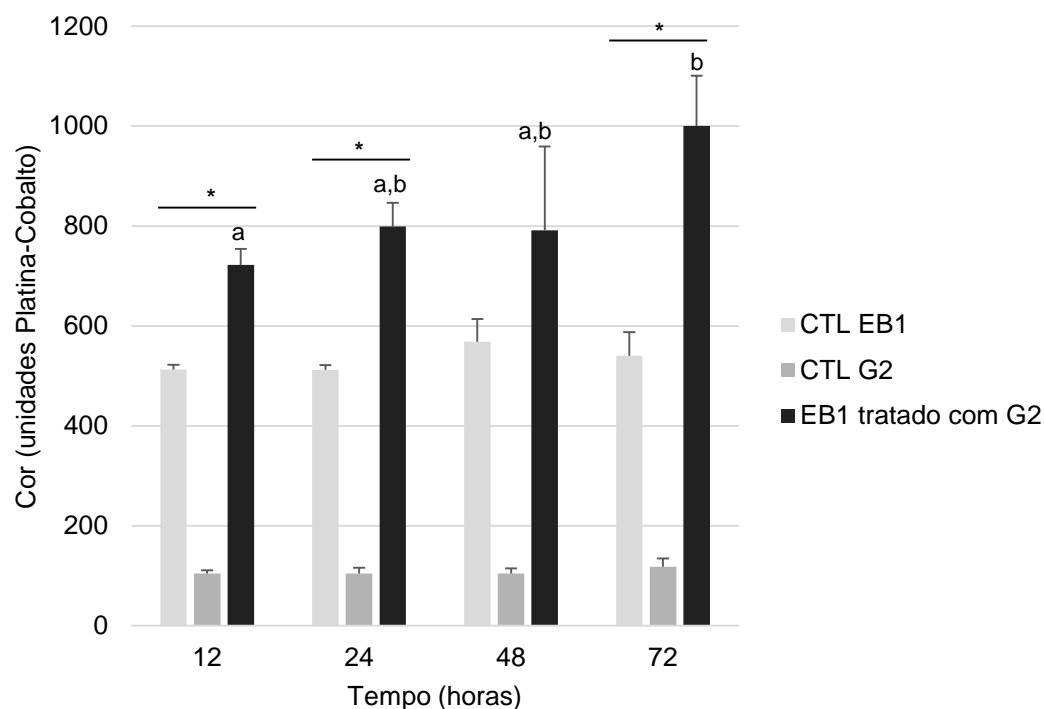


Figura 3.4 - Cor, em unidades de Platina-Cobalto, do efluente têxtil bruto (EB1) tratado com o Granulado 2 (G2) e do controle do Granulado 2, a diferentes tempos de contacto. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c, representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre o controle do efluente (EB1) e o efluente tratado com G2, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.

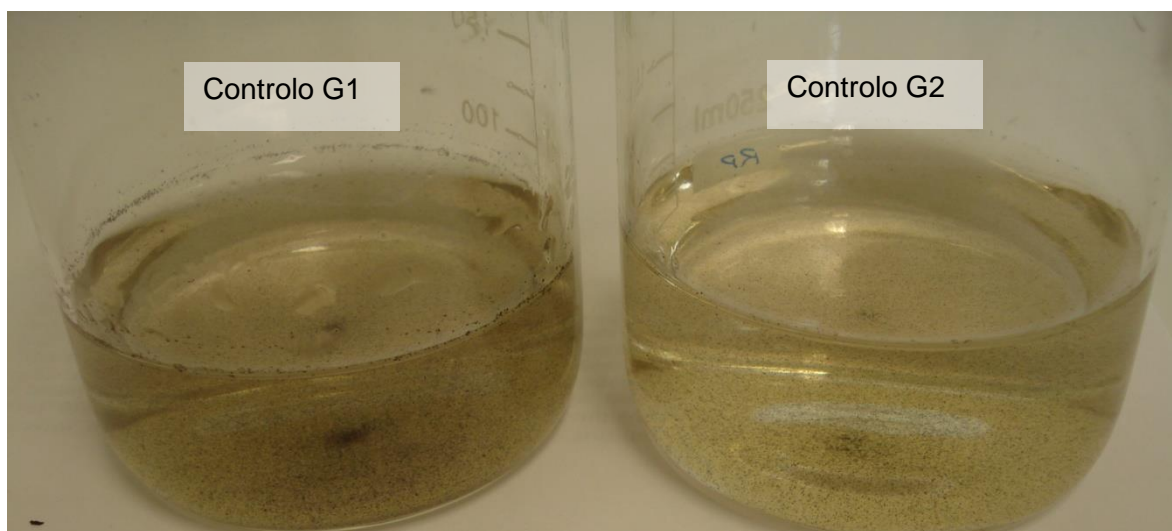


Figura 3.5 – Imagem dos controlos (água destilada) após tratamento com o granulado de cortiça 1 (G1) e com o granulado de cortiça 2 (G2). As amostras foram filtradas com filtro de café.

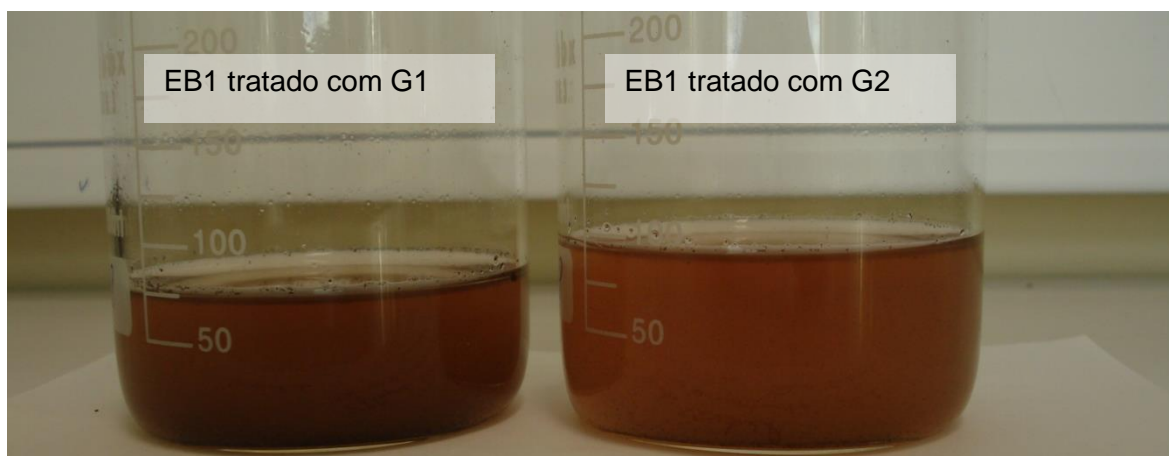


Figura 3.6 - Aspeto do efluente têxtil EB1 tratado com o granulado de cortiça 1 (G1) e com o granulado de cortiça 2 (G2) após filtração com filtro de café.



Figura 3.7 – Efluente Bruto 1 (EB1) sem tratamento.

As amostras de efluente que estiveram em contacto com os granulados de cortiça, praticamente, não apresentaram diferenças em relação ao controlo do efluente, no que se refere à condutividade. Apenas se verificaram ao final de 12 horas diferenças significativas, para o efluente tratado com ambos os granulados (Figura 3.8 e 3.9). Às 72 horas, tanto no controlo do efluente como nos efluentes tratados, houve um aumento da condutividade. O Decreto-Lei 236/98, de 1 de Agosto, não apresenta um valor limite de emissão (VLE), em termos de condutividade, para a descarga de águas residuais, no entanto estabelece um valor máximo recomendável (VMR) de 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ de condutividade, para descargas em águas doces superficiais destinadas à produção de água para consumo humano, valor este que é ultrapassado pelo efluente bruto e pelos efluentes tratados pelos granulados de cortiça. Os controlos dos granulados 1 e 2 apresentam uma condutividade inferior ao VMR referido pelo Decreto-Lei 236/98, de 1 de Agosto (Figura 3.10).

A condutividade do controlo do granulado 1, CTL G1, apresentou diferenças significativas ao longo do tempo (G1: $F=32,55$; g.l.=3,11; $p<0,001$), enquanto que o controlo do granulado 2, CTL G2, não variou significativamente com o tempo (G2: $F=3,39$; g.l.=3,11; $p=0,07$). A condutividade do efluente sem granulados de cortiça, Controlo EB1, aumentou significativamente ao longo do tempo ($F=131,67$; g.l.=3,11 e $p<0,001$). Quando o efluente está em contacto com os granulados verificaram-se diferenças significativas ao longo do tempo, (G1: $F=469,37$; g.l.=3,11; $p<0,001$; G2: $F=186,73$; g.l.=3,11; $p<0,001$), mais especificamente às 72 horas onde se verificou um aumento do valor de condutividade. Na tabela 3.5 está representada a diferença segundo uma análise unifactorial, para cada tempo de contacto, entre o controlo do efluente e o efluente tratado. Apenas às 12 horas houve uma diminuição significativa no valor da condutividade entre o controlo do efluente e o efluente tratado com os dois granulados.

Tabela 3.5 - Resultados das análises unifactoriais realizadas para testar as diferenças entre os valores de condutividade registados para cada tempo de contacto, entre o controlo do efluente (EB1) e o efluente tratado com Granulado 1 e Granulado 2.

	Granulado 1			Granulado 2		
	F	<i>p</i>	g.l.	F	<i>p</i>	g.l.
12 horas						
CTL EB1xEB1 tratado	20,95	$p<0,05$	1,5	11,77	$p<0,05$	1,5
24 horas						
CTL EB1xEB1 tratado	2,03	$p=0,23$	1,5	4,77	$p=0,09$	1,5
48 horas						
CTL EB1xEB1 tratado	2,83	$p=0,17$	1,5	3,59	$p=0,13$	1,5
72 horas						
CTL EB1xEB1 tratado	5,18	$p=0,09$	1,5	6,34	$p=0,07$	1,5

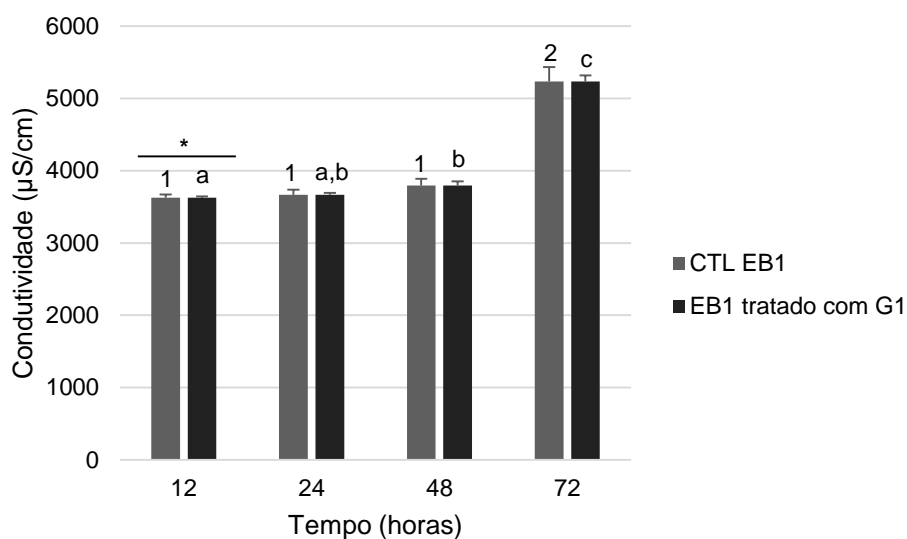


Figura 3.8 – Condutividade, em $\mu\text{S}/\text{cm}$, do controlo do efluente e do efluente têxtil (EB1) tratado com Granulado 1 (G1) ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c, representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL EB1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre o controlo do efluente (EB1) e o efluente tratado com G1, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.

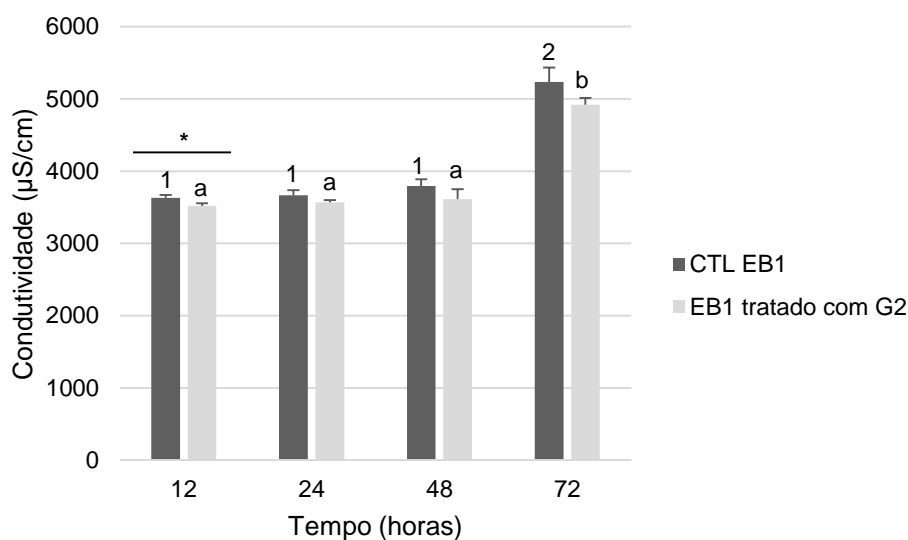


Figura 3.9 – Condutividade, em $\mu\text{S}/\text{cm}$, do controlo do efluente e do efluente têxtil (EB1) tratado com o Granulado 2 (G2) ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL EB1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre o controlo do efluente (EB1) e o efluente tratado com G2, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.

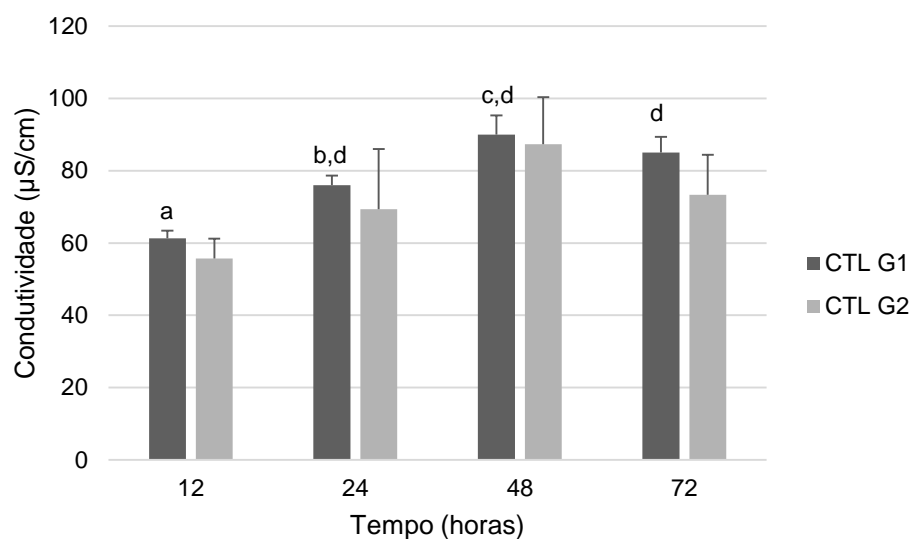


Figura 3.10 – Condutividade, em $\mu\text{S/cm}$, do controlo Granulado 1 (G1) e do Granulado 2 (G2) ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b, c e d representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o Controlo com o Granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. O Controlo do Granulado 2 não apresentou diferenças significativas ao longo do tempo.

Na tabela 3.6 encontram-se descritos os valores da CQO para as 48 e 72 horas e verifica-se que a percentagem de remoção de CQO em relação ao controlo foi muito baixa, atingindo o valor mais elevado (8,91%) às 72 horas para o efluente tratado com o granulado 1 (G1) e às 48 horas (12,24%) para o efluente tratado com o granulado 2 (G2). Os valores de CQO apresentados estão muito acima do valor limite de emissão (VLE), 150 mg/l O_2 , e do valor máximo admissível (VMA), 250 mg/l O_2 , definidos na Portaria nº 423/97, de 25 de Junho e no Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto. Estes valores elevados de CQO são indicativos que estes efluentes têm compostos tóxicos que podem inibir os microrganismos, das próprias estações de tratamento. Segundo Bisschops e Spanjers (2003) a gama de valores de CQO para o processo de tingimento de uma fábrica de algodão está entre 1115 e 4585 mg/l O_2 .

Tabela 3.6 – Valores da Carência Química de Oxigénio (CQO) e % remoção da CQO relativamente ao controlo do Efluente Têxtil para as 48 e para as 72 horas de contacto. Os valores apresentados correspondem a uma mistura composta de 3 réplicas de cada tratamento.

Ensaio	Tempo de contato (horas)	CQO (mg/l)	% Remoção
Controlo Efluente Têxtil	48	2174	-
	72	2290	-
EB1 tratado com G1	48	2038	6,26
	72	2086	8,91
EB1 tratado com G2	48	1908	12,24
	72	2190	4,37

Nas Figuras 3.11 e 3.12 estão representados os valores de pH no final dos ensaios. O controlo do efluente bruto apresentou um pH mais alcalino relativamente aos efluentes tratados com os granulados, no entanto a diferença foi reduzida, não se podendo sugerir que a cortiça ajusta o pH do efluente para valores próximos da neutralidade. Além disso, o pH inicial da amostra de EB1 foi de 10,16 e para todos os tempos de ensaio no controlo do efluente, sem granulados de cortiça, também se verificou uma descida do valor de pH para valores próximos de 9.

Os valores de pH variaram significativamente ao longo do tempo para os controlos dos granulados, CTL G1 e CTL G2, (G1: $F=16,36$; g.l.=3,11 e $p<0,001$; G2: $F=123,00$; g.l.=3,11 e $p<0,001$). O valor de pH do controlo do efluente também sofreu alterações significativas ao longo do tempo ($F=17,00$; g.l.=3,11 e $p<0,001$). O valor de pH dos efluentes tratado pelos granulados também sofreu variações significativas ao longo do tempo (G1: $F=69,2$; g.l.=3,11 e $p<0,001$; G2: $F=45,5$; g.l.=3,11 e $p<0,001$).

Comparando, com base numa análise de variância unifactorial, o valor de pH entre o EB1 tratado com G1 e o EB1 tratado com G2 para cada tempo de contacto verifica-se que não houve diferenças significativas entre os granulados para as 12, 24 e 48 horas (12 horas: $F=6,1$; g.l.=1,5 e $p=0,07$; 24 horas: $F=0,84$; g.l.=1,5 e $p=0,41$; 48 horas: $F=1$; g.l.=1,5 e $p=0,346$). Apenas às 72 horas se verificaram diferenças estatisticamente significativas (72 horas: $F=69,6$; g.l.=1,5 e $p<0,05$), sendo que o G1 foi o que provocou uma diminuição mais significativa relativamente ao pH inicial. Pela observação da Figura 3.11 verifica-se a diminuição do pH do efluente bruto com granulado 1 ao longo do tempo.

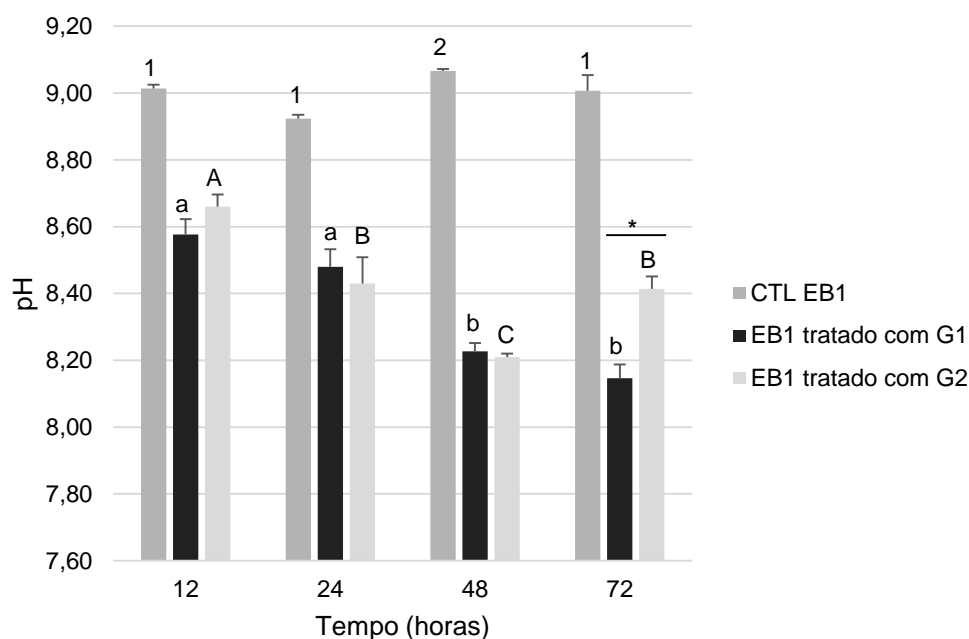


Figura 3.11 – Valor de pH para o controlo do efluente, para o efluente tratado com G1 e para o efluente tratado com G2 ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) para o CTL do efluente ao longo do tempo. As letras a e b minúsculas representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o EB1 tratado com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. As letras A, B e C maiúsculas representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para EB1 tratado com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representam as diferenças significativas entre EB1 tratado com G1 e o EB1 tratado com G2, para cada tempo de contacto, segundo uma análise ANOVA unifactorial.

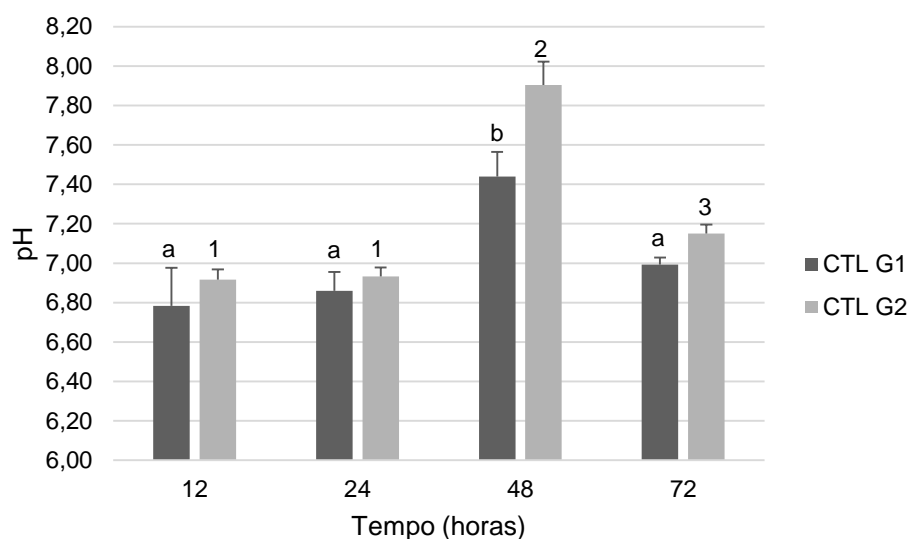


Figura 3.12 – Valor de pH dos controlos dos granulados ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1, 2 e 3 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Não há diferenças significativas entre os controlos para cada tempo de contacto, segundo análise por ANOVA unifactorial.

Na Figura 3.13 está representado o volume do granulado 1 registado para os vários tratamentos e na Figura 3.14 o volume do granulado 2. O volume do granulado para o controlo do granulado 1 não apresentou diferenças significativas ao longo do tempo ($F=1,54$; g.l.=3,11 e $p=0,278$). Pelo contrário o volume do controlo do granulado 2 apresentou diferenças significativas entre os tempos ($F=4,83$; g.l.=3,11 e $p<0,05$). O volume dos granulados que foram usados nos tratamentos não sofreram variações significativas ao longo do tempo (G1: $F=2,78$; g.l.=3,11 e $p=0,110$; G2: $F=0,081$; g.l.=3,11 e $p=0,968$).

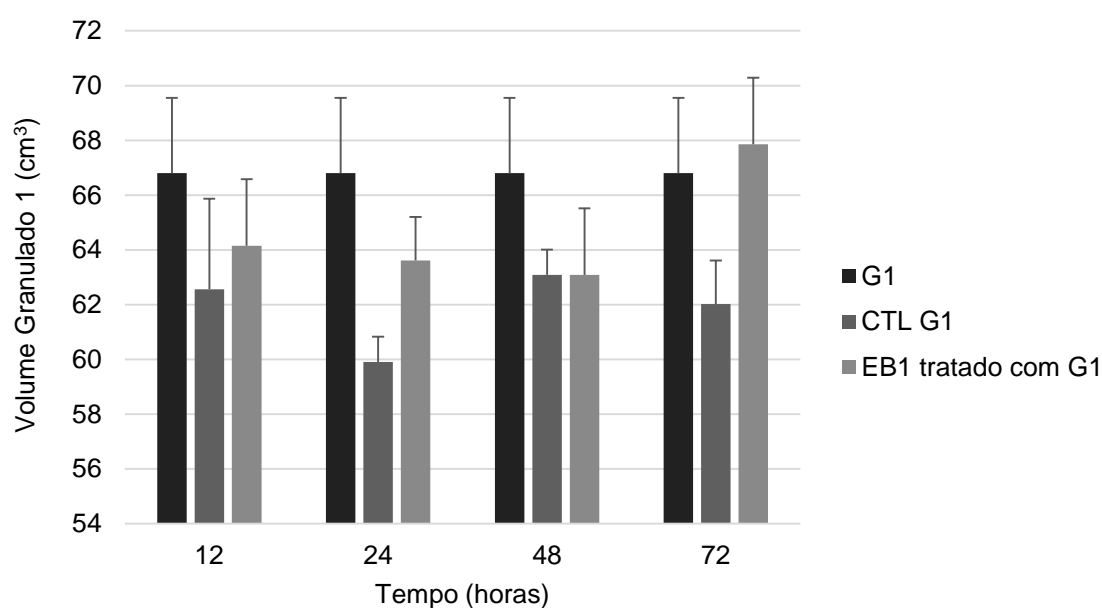


Figura 3.13 – Volume (cm³) dos granulados para os dois tratamentos, CTL G1 e EB1 tratado com G1, comparativamente ao G1 seco, ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão.

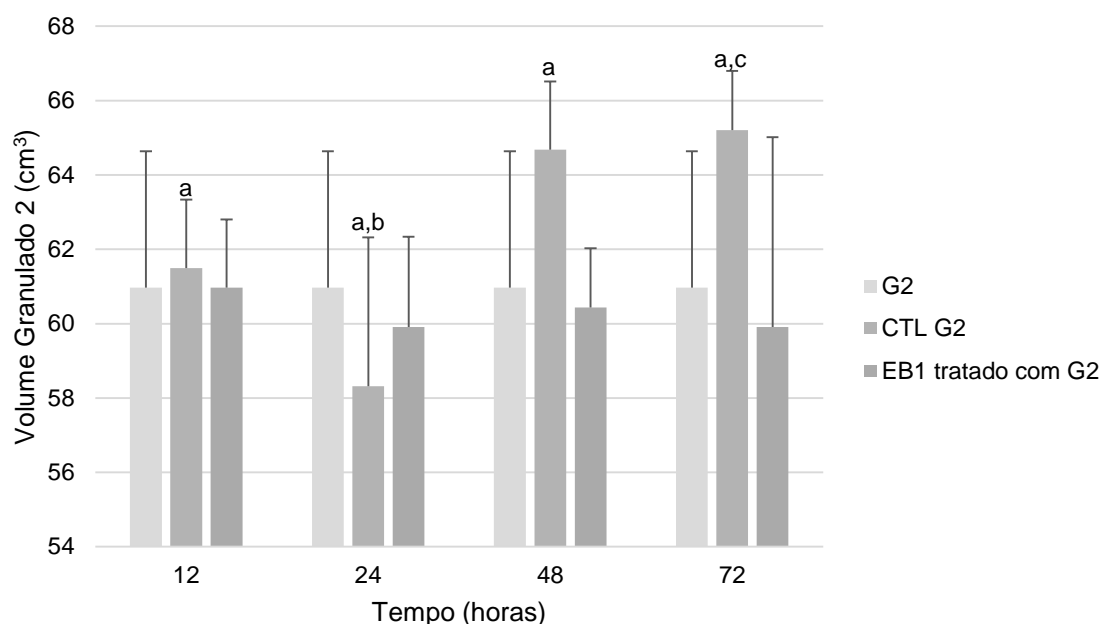


Figura 3.14 – Volume (cm³) dos granulados para os dois tratamentos, CTL G1 e EB1 tratado com G2, comparativamente ao G2 seco, ao longo do tempo. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre tempos para o CTL com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

Pelos resultados acima apresentados concluiu-se que os ensaios de adsorção com os granulados de cortiça 1 e 2 (G1 e G2) não foram eficazes para a remoção de cor, de CQO e da condutividade da amostra de efluente têxtil bruto estudado (EB1). A partir destes ensaios de otimização chegou-se à conclusão que um fator que poderia ter influenciado de forma significativa a eficácia deste material seria a ausência de agitação, uma vez que a cortiça é um material pouco denso e hidrofóbico, que se acumula à superfície não se misturando com o efluente ou com a água destilada, se não for forçado a isso. Assim uma nova hipótese formulada foi que com a adição de agitação se poderia aumentar o contacto dos poluentes com os sítios ativos dos granulados de cortiça e aumentar a transferência de massa.

3.3.2. Ensaios finais de adsorção com cortiça

Os ensaios finais de adsorção com cortiça foram realizados em *gobelés* de vidro, por se ter verificado nos ensaios preliminares que os recipientes de plástico usados adsorveram cor do efluente. Na verdade tal facto já era esperado, contudo, nos ensaios preliminares, os recipientes de plástico foram escolhidos porque eram os que possuíam maior área superficial e eram os estavam disponíveis para utilização. Outra alteração em relação aos ensaios preliminares foi a adição da agitação a 90 rpm durante o ensaio, de forma a promover um maior contacto do adsorvente (cortiça) com o efluente a tratar. Esta

velocidade de agitação foi escolhida porque com uma agitação superior os granulados da cortiça sofriam danos na sua estrutura física, ficando com uma aparência de “lama” em contacto com a solução aquosa. O ensaio de adsorção decorreu em sistema fechado. Estes ensaios tiveram como objetivo principal avaliar a capacidade dos granulados de cortiça em adsorver os principais poluentes, reduzindo a cor, a condutividade e a CQO de efluentes têxteis.

Os ensaios definitivos de adsorção foram realizados para o Efluente Bruto 2, que apresentava uma coloração inicial de 560 unidades Platina-Cobalto. O gráfico da Figura 3.15 apresenta a cor média dos efluentes tratados com os granulados 1 e 2, comparativamente aos controlos. Verifica-se que os granulados acrescentaram cor à água destilada (CTL G2 e CTL G2), assim como ao efluente têxtil (Efluente tratado com G1 e Efluente tratado com G2). Conclui-se assim que o tratamento do efluente têxtil com os granulados de cortiça testados pioraram a qualidade do efluente, no que diz respeito à sua coloração.

Realizou-se uma análise de variância unifactorial para comparar a variação de cor entre os diferentes tratamentos tendo-se verificado a ocorrência de diferenças significativas entre estes três tratamentos (G1: $F=401,85$; g.l.=2,11 e $p<0,001$; G2: $F=229,26$; g.l.=2,11 e $p<0,001$). Comparando os dois granulados verificou-se que nos controlos do granulado existem diferenças significativas na cor conferida à água destilada ($F=14,41$; g.l.=1,5 e $p<0,05$), contudo no efluente tratado não se registaram diferenças significativas na cor que foi adicionada através dos granulados ($F=5,30$; g.l.=1,5 e $p=0,06$).

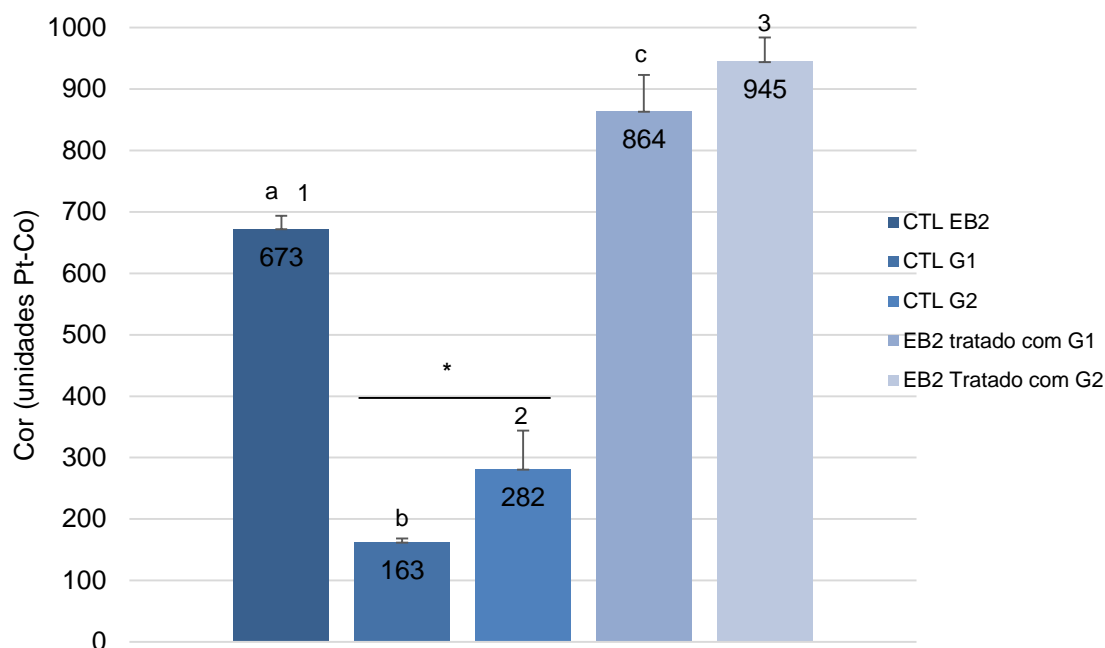


Figura 3.15 - Cor, em unidades de Platina-Cobalto, do efluente tratado com Granulado 1 (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 (G2), em comparação com os controlos dos granulados e com os controlos do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1, 2 e 3 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os asteriscos representa a diferença significativa entre o CTL com G1 e o CTL com G2, segundo uma análise ANOVA unifactorial.

Como se verificou um aumento da coloração do efluente após o tratamento com os granulados da cortiça, assim como a libertação de pó pelos granulados (Figura 3.16) foi realizado um pré-tratamento adicional, que consistiu numa lavagem dos granulados 1 e 2 (procedimento especificado no ponto 3.2.2 do Material e Métodos). Esta lavagem teve como objetivo averiguar se a lavagem diminuía a coloração atribuída pelos granulados ao efluente e se ocorria um aumento da capacidade de adsorção de cor pelos mesmos.

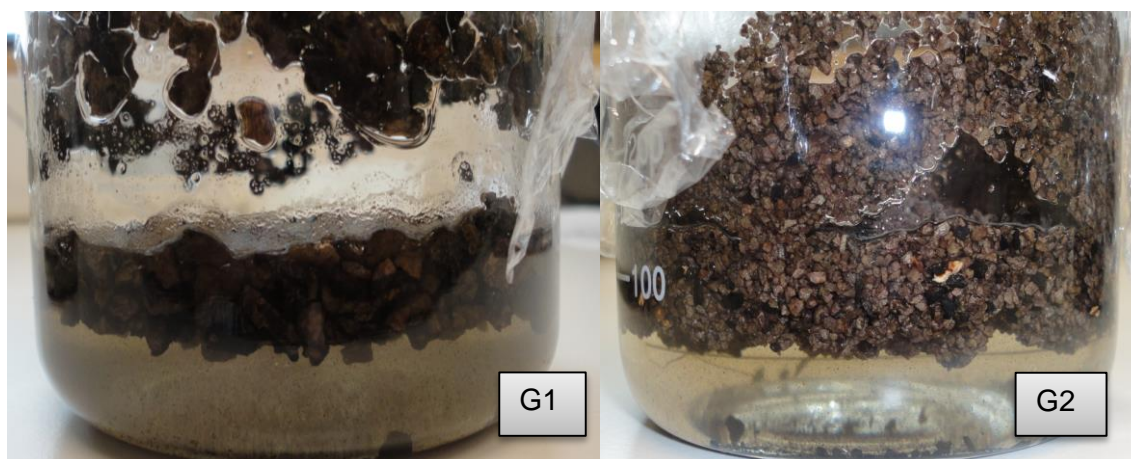


Figura 3.16- Visualização do resíduo libertado pelos granulados de cortiça após o ensaio de adsorção com agitação contínua. G1: Granulado 1 e G2: Granulado 2.

A Figura 3.17 representa graficamente a cor para os ensaios de adsorção com a cortiça lavada. A cortiça com este pré-tratamento não foi responsável por induzir um aumento de coloração tão elevado, contudo apenas o efluente tratado com o granulado 1 apresentou um ligeiro decréscimo na cor, estatisticamente significativo (Figura 3.17) relativamente ao controlo do efluente. Em relação ao granulado 2 registou-se de novo um aumento da cor do efluente em relação ao controlo do efluente, contudo esta diferença não foi significativamente relevante (Figura 3.17). Em relação aos controlos verificou-se o contrário o granulado 1 acrescentou mais cor à água que o granulado 2. A análise de variância unifactorial aos três tratamentos: CTL EB2, CTL granulados lavados e EB2 tratado com granulados lavados, apresentou diferenças significativas entre estes três tratamentos para ambos os resultados (G1: $F=425,1$; g.l.=2 e $p<0,001$; G2: $F=125,6$; g.l.=2 e $p<0,001$).

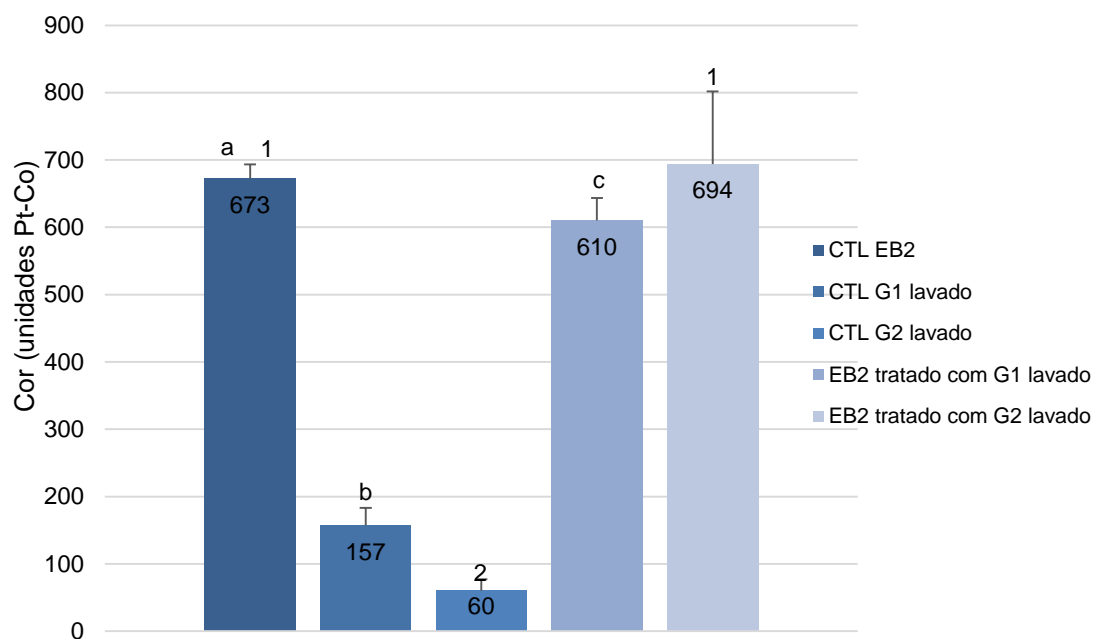


Figura 3.17- Cor, em unidades de Platina-Cobalto, do efluente tratado com Granulado 1 lavado (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 lavado (G2), em comparação com os controlos dos granulados e com os controlos do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

Pela observação da Figura 3.18 verifica-se uma ligeira redução estatisticamente significativa do valor de condutividade entre o controlo do efluente e o efluente tratado com os granulados de cortiça sem pré-tratamento (G1: $F=46,13$; g.l.=1,5 e $p < 0,001$; G2: $F=50,58$; g.l.=1,5 e $p < 0,001$). Não se analisou a interação com o controlo dos granulados porque a diferença dos valores de condutividade é evidente e iria forçar diferenças significativas na análise.

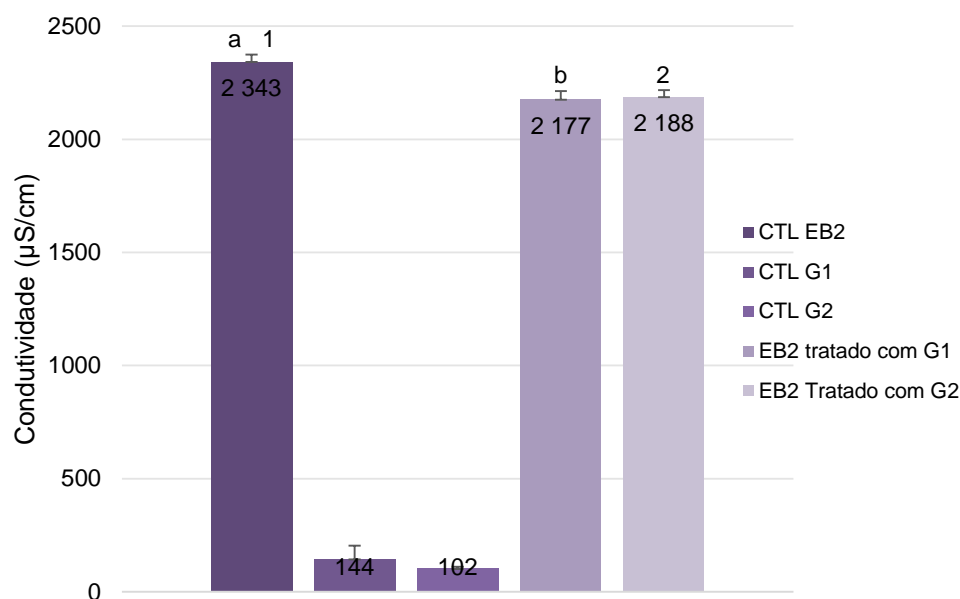


Figura 3.18- Condutividade, em $\mu\text{S}/\text{cm}$, do efluente tratado com Granulado 1 (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 (G2), em comparação com os controlos dos granulados lavados e com o controlo do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com G1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com G2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

A lavagem dos granulados de cortiça não influenciou nos valores de condutividade no que diz respeito ao tratamento do efluente, contudo nos controlos a lavagem dos granulados diminuiu o valor de condutividade acrescentado à água destilada (Figura 3.19). Nas amostras de efluente tratado com os granulados lavados também houve uma pequena redução no valor de condutividade, a qual foi estatisticamente significativa (G1: $F=43,67$; g.l.=1,5 e $p < 0,001$; G2: $F=528,35$; g.l.=1,5 e $p < 0,05$).

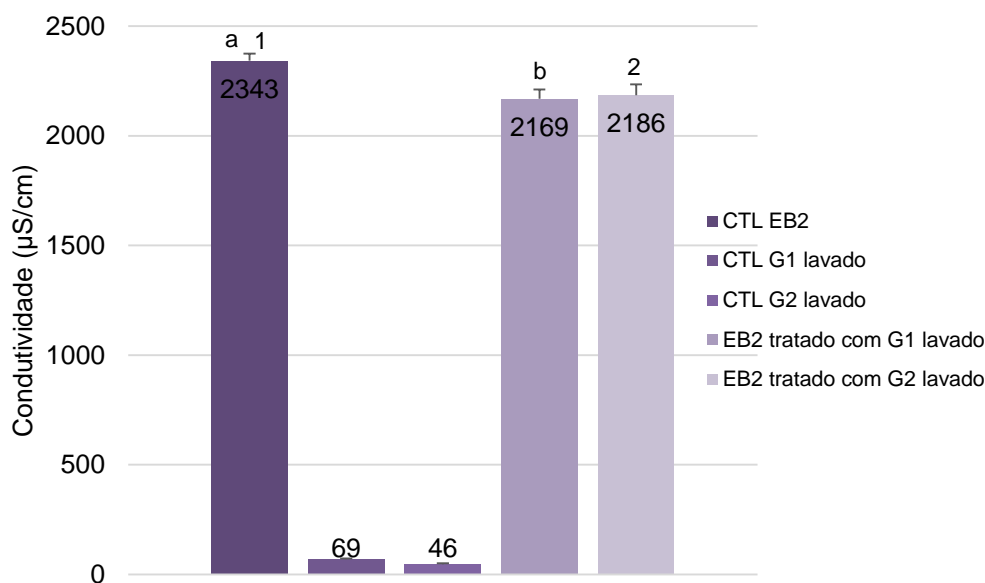


Figura 3.19- Condutividade, em $\mu\text{S/cm}$, do efluente tratado com Granulado 1 lavado (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 lavado (G2), em comparação com os controlos dos granulados lavados e com o controlo do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com G1 lavado, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o controlo do efluente e o efluente tratado com G2 lavado, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

Na Figura 3.20 estão representados os valores de CQO para os vários tratamentos. Não foi possível realizar a análise de variância unifactorial para verificar se existem diferenças significativas porque foram feitas leituras para amostras compostas pelas 4 réplicas para cada tratamento. Relativamente aos efluentes tratados verificou-se que a lavagem dos granulados diminuiu ligeiramente a eficácia na remoção do valor de CQO, sendo que o granulado 1 não lavado foi o que atingiu uma diminuição mais acentuada no valor de CQO, com uma taxa de remoção de 19%. O granulado 1 foi o que proporcionou uma maior capacidade de remoção da CQO do EB1, tanto o G1 lavado como o G1 não lavado, com uma percentagem de remoção de 19 e 13%, respetivamente. O granulado 2 possibilitou uma taxa de remoção de 3 e 5%, para o G1 lavado e para o G1 não lavado, respetivamente. Contudo a variação nas taxas de remoção é tão pequena que se se tivesse lido a CQO para cada réplica certamente não existiram diferenças significativas entre os tratamentos com os granulados lavados e os não lavados, não se verificando então diferença na eficácia com a lavagem.

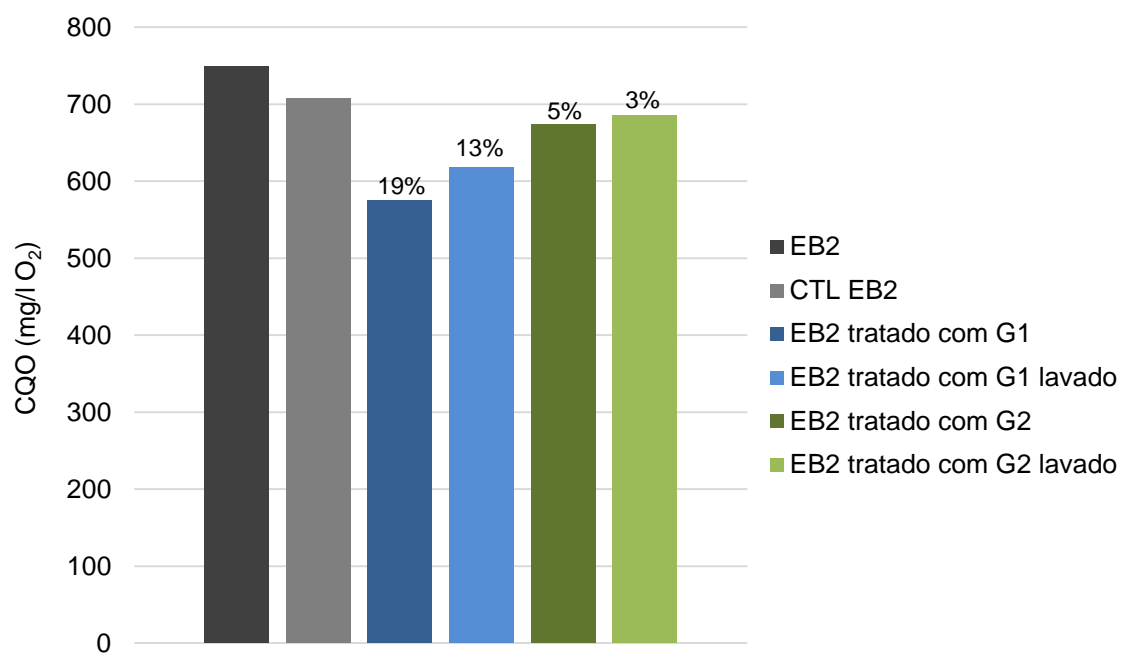


Figura 3.20 – Comparação dos valores de CQO (mg/l O₂) das amostras de EB2 tratadas com Granulado 1 (G1) e com Granulado 2 (G2). Os valores em percentagem por cima das barras correspondem à percentagem de remoção de CQO relativamente ao controlo do efluente.

Na Figura 3.21 está representada a variação dos valores de pH com os tratamentos. O contacto do efluente com os granulados de cortiça provocou um aumento significativo de pH. Verificaram-se ainda diferenças significativas entre os tratamentos (G1: $F=406,64$; g.l.=2,11 e $p<0,001$; G2: $F=308,68$; g.l.=2,11 e $p<0,001$) no que se refere a este parâmetro.

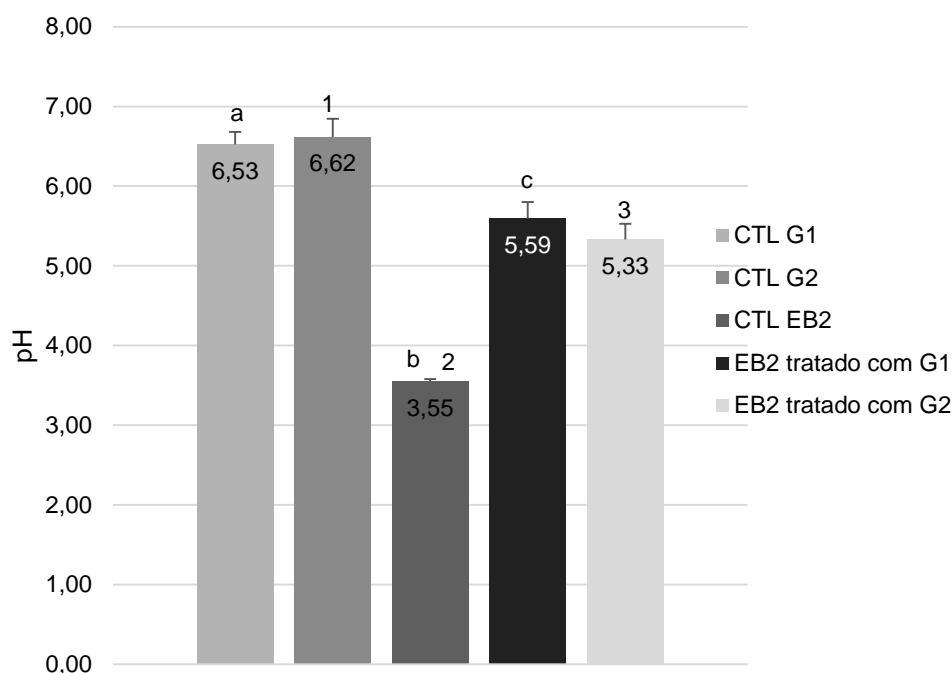


Figura 3.21 – Valores de pH do efluente tratado com Granulado 1 (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 (G2), em comparação com os controlos dos granulados e com os controlos do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1, 2 e 3 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

Na Figura 3.22 estão representados os valores de pH para os ensaios com os granulados de cortiça lavados e verifica-se que o fenómeno de correção de pH do efluente pelos granulados não foi tão acentuado como nos granulados sem pré-tratamento (Figura 3.21). Através de uma análise unifactoral verificaram-se diferenças significativas entre os tratamentos com os granulados lavados (G1: $F=2609$; g.l.=2,11 e $p < 0,001$; G2: $F=1178$; g.l.=2,11 e $p < 0,001$). O pH do controlo do efluente apresenta um valor similar ao pH no ponto de carga zero (pHpzc) da cortiça, 3,5 (Olivella *et al.* 2011a). A este valor de pH a cortiça não apresenta carga superficial, contudo no ensaio de adsorção o valor de pH do efluente sobe ligeiramente indicando que a cortiça fica carregada negativamente podendo interagir com moléculas com carga positiva, como catiões ou corantes de carga positiva (Olivella *et al.* 2011a). Num estudo futuro será interessante avaliar-se a capacidade de adsorção a diferentes valores de pH. Na realidade a adsorção de diferentes classes de corantes exige diferentes faixas de pH. Corantes básicos exigem condições alcalinas ou neutras e corantes reativos exigem condições ácidas (Vijayaraghavan e Yun, 2008). Assim é importante controlar o pH durante o processo de adsorção pois este afeta tanto a configuração dos sítios de ligação do adsorvente, como o estado iónico do adsorbato na solução (Volesky, 2007).

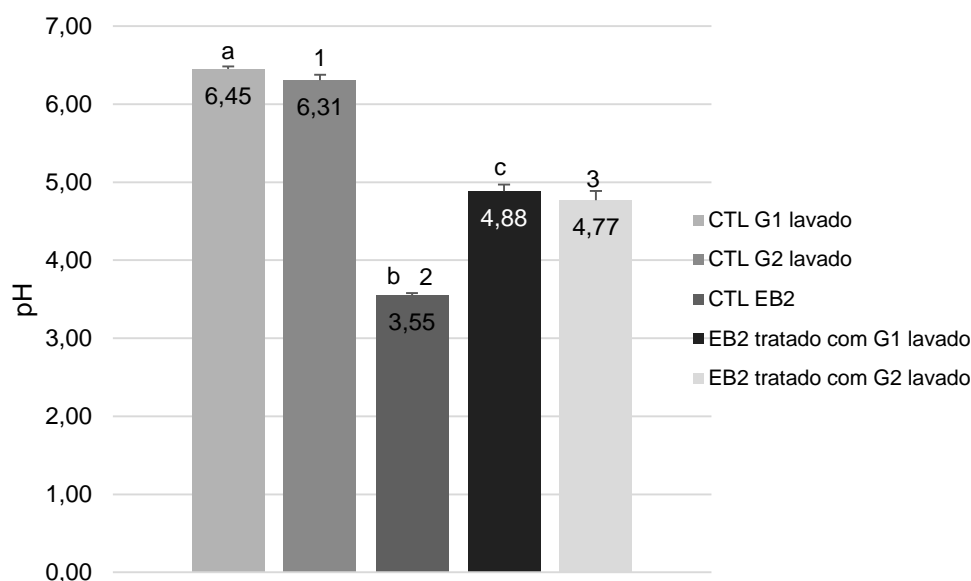


Figura 3.22 – Valores de pH do efluente tratado com Granulado 1 lavado (G1) e do efluente tratado com Granulado 2 lavado (G2), em comparação com os controlos dos granulados e com os controlos do efluente, após 72 horas de contato. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a, b e c representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1 lavado, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1, 2 e 3 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2 lavado, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

O volume (cm^3) dos granulados secos e dos granulados após ensaios de adsorção (CTL e EB2 tratado) apresentou diferenças significativas (G1: $F=345$; g.l.=2,11 e $p < 0,001$; G2: $F=14,86$; g.l.=2,11 e $p < 0,05$), o que indica que após adsorção houve um aumento de volume dos granulados, sendo este mais significativo no granulado 1 (Figura 3.23). Este facto também ocorreu para os granulados de cortiça que sofreram o pré-tratamento de lavagem (Figura 3.24) onde também se observaram diferenças significativas entre os tratamentos (G1: $F=147,9$; g.l.=2,11 e $p < 0,001$; G2: $F=29,8$; g.l.=2,11 e $p < 0,001$). Este aumento de volume da cortiça com os granulados não era esperado uma vez que a cortiça é reportada como sendo hidrofóbica. Perante estes resultados verifica-se que o granulado 1 terá uma capacidade maior de adsorver compostos nomeadamente orgânicos em comparação com o granulado 2, como se pode comprovar pelo resultado da CQO.

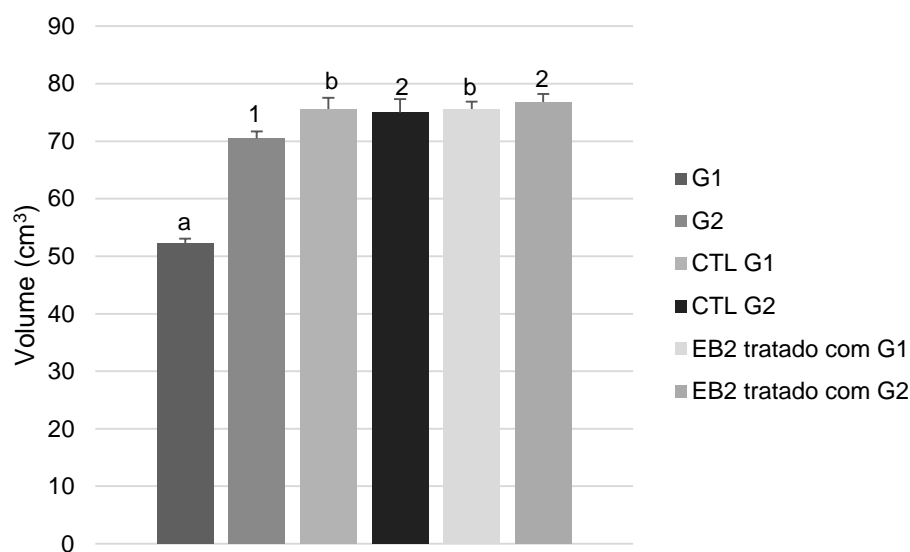


Figura 3.23 – Volume dos granulados após os ensaios de adsorção, em comparação com o G1 e o G2 antes do ensaio. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

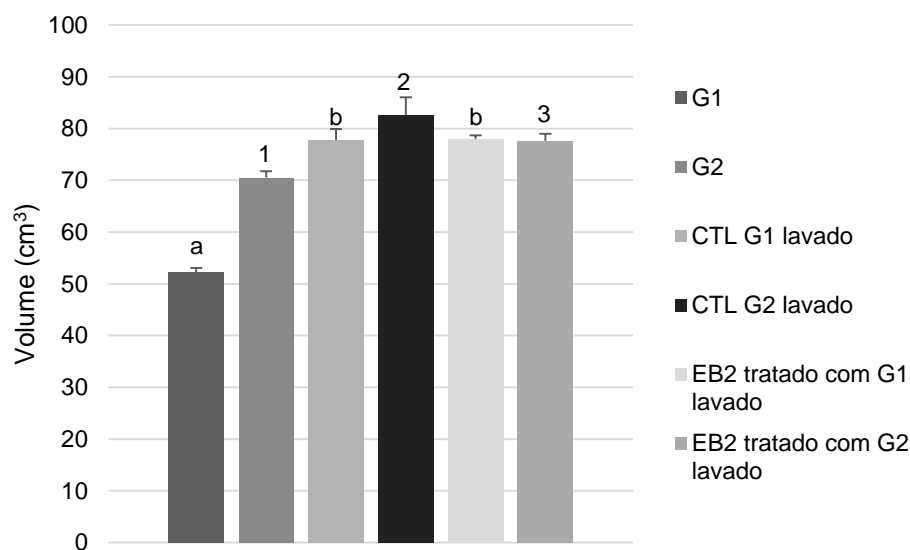


Figura 3.23 – Volume dos granulados após os ensaios de adsorção com lavagem dos granulados, em comparação com o G1 e o G2 antes do ensaio. As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos para o granulado 1, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos para o granulado 2, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

Pela observação da Tabela 3.7 verifica-se que não houve remoção dos constituintes químicos analisados, com o Granulado 1 houve um ligeiro aumento na concentração destes. Com o granulado 2 verificou-se uma taxa de remoção muito pequena de todos os constituintes químicos não chegando a atingir 1% de remoção. Para os controlos dos

granulados os constituintes químicos analisados ficaram abaixo do limite de detecção (1ng/l).

Para uma avaliação da capacidade e das propriedades de adsorção dos granulados de cortiça usados seria necessário uma caracterização da sua superfície. A caracterização química seria essencial para perceber os mecanismos de adsorção, que estão dependentes dos grupos funcionais presentes na superfície do adsorvente (Pintor *et al.*, 2012). Através da informação fornecida pela empresa Corticeira Amorim sabe-se que os granulados foram submetidos a um tratamento térmico com vapor de água a 400°C, e recolhidos nas fases de corte e trituração, o que nos indica, segundo Neto *et al.* (1995), que a superfície da cortiça é constituída por compostos aromáticos de carbono, pois a partir dos 250°C inicia-se a decomposição da suberina e aos 350°C da lignina, tornando a cortiça uma mistura de coque. Esta alteração na estrutura da cortiça provocada pelo tratamento térmico a 400°C pode ter estabilizado quimicamente a superfície da cortiça uma vez que as moléculas aromáticas normalmente exibem uma estabilidade química ampliada em comparação às moléculas semelhantes não aromáticas, o que é um sinal negativo para uma possível adsorção química. Segundo Pintor *et al.* (2012) os compostos que foram degradados com o tratamento térmico, a lignina e a suberina, por serem hidrofóbicos seriam aqueles que provocariam um aumento da capacidade de difusão de compostos hidrofóbicos para a cortiça, tornando-a vantajosa em termos de afinidade para a remoção de poluentes orgânicos. Em suma, para ser eficaz como adsorvente, a cortiça não deveria ter tido um tratamento tão intensivo para não destruir a sua capacidade de interação com compostos orgânicos. Assim é importante avaliar a capacidade de adsorção da cortiça sem este tratamento térmico, contudo, sabe-se que é importante realizar-se um tratamento à cortiça para reduzir a sua capacidade para induzir cor e toxicidade através da libertação de alguns compostos orgânicos, como compostos fenólicos, nomeadamente taninos (Mendonça *et al.*, 2004).

Domingues *et al.* (2005) também usaram dois granulados de cortiça, um com um diâmetro de 1-2 mm e outro com um diâmetro de 3-4 mm para a remoção de um inseticida e acaricida denominado bifentrina. Obtiveram uma taxa de remoção de 80% contudo aplicaram um tratamento menos intensivo, que consistiu na lavagem dos granulados com água destilada e na secagem destes a 105±5°C durante 4 dias. Os granulados de cortiça mais pequenos apresentaram uma capacidade máxima de adsorção superior aos granulados maiores, uma vez que têm maior área superficial disponível. Domingues *et al.* (2005) afirmam que área disponível para adsorção pela cortiça é apenas a área superficial externa. O tempo de equilíbrio para os dois granulados

foi às 24 horas, sendo que a partir deste tempo torna-se difícil para as moléculas do adsorbato encontrar sítios de adsorção disponíveis. Outros autores também referenciaram que tempo de equilíbrio de sorção de poluentes orgânicos na cortiça é atingido em 20-48 h (Domingues, 2005; Villaescusa *et al.*, 2011).

Tabela 3.7 – Constituintes químicos obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa do controlo do EB2 e do EB2 tratado com G1 e com G2. R corresponde à percentagem de remoção dos constituintes químicos.

Constituinte	Controlo EB2 ($\mu\text{g/l}$)		EB2 tratado com G1 ($\mu\text{g/l}$)			EB2 tratado com G2 ($\mu\text{g/l}$)		
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	R (%)	Média	Desvio-padrão	R (%)
Fenol	0,0303	$7,8 \times 10^{-5}$	0,0304	$7,8 \times 10^{-5}$	-0,30	0,0302	$6,1 \times 10^{-5}$	0,31
Hexamina	0,0361	$4,7 \times 10^{-5}$	0,0362	$4,7 \times 10^{-5}$	-0,21	0,0359	$3,8 \times 10^{-5}$	0,59
Etil-tetrametil-heptano	0,0189	$3,7 \times 10^{-5}$	0,0190	$3,7 \times 10^{-5}$	-0,40	0,0188	$4,7 \times 10^{-5}$	0,24
2,6-terc-butil-quinona	1,5099	$3,9 \times 10^{-3}$	1,5144	$3,9 \times 10^{-3}$	-0,30	1,5051	$3,1 \times 10^{-3}$	0,31
Tetrametil-dodecano	0,0187	$2,4 \times 10^{-5}$	0,0188	$2,4 \times 10^{-5}$	-0,21	0,0186	$2,0 \times 10^{-5}$	0,59
Ionol (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol)	0,0148	$2,9 \times 10^{-5}$	0,0149	$2,9 \times 10^{-5}$	-0,40	0,0148	$3,7 \times 10^{-5}$	0,24
Dietilftalato	0,0869	$2,2 \times 10^{-4}$	0,0872	$2,2 \times 10^{-4}$	-0,30	0,0867	$1,8 \times 10^{-4}$	0,31
Nonilfenol	0,3318	$4,3 \times 10^{-4}$	0,3325	$4,3 \times 10^{-4}$	-0,21	0,3298	$3,5 \times 10^{-4}$	0,59
Ácido 3,5-di-terc-butil-4-hidroxi-benzóico	0,0320	$6,2 \times 10^{-5}$	0,0322	$6,2 \times 10^{-5}$	-0,40	0,0320	$8,0 \times 10^{-5}$	0,24
2,6-Di-terc-butil-4-etil-fenol	1,5740	$4,1 \times 10^{-3}$	1,5787	$4,1 \times 10^{-3}$	-0,30	1,5690	$3,2 \times 10^{-3}$	0,31
2,6-Di-terc-butil-4-metoximetil-fenol	0,0178	$2,3 \times 10^{-5}$	0,0178	$2,3 \times 10^{-5}$	-0,21	0,0177	$1,9 \times 10^{-5}$	0,59
Dimetil-carboximetil-hexil ftalato	0,2406	$6,2 \times 10^{-4}$	0,2413	$6,2 \times 10^{-4}$	-0,30	0,2398	$4,9 \times 10^{-4}$	0,31
Octadecano	0,1036	$1,3 \times 10^{-4}$	0,1038	$1,3 \times 10^{-4}$	-0,21	0,1030	$1,1 \times 10^{-4}$	0,59
Butil-2-etil-hexil-ftalato	0,1485	$2,9 \times 10^{-4}$	0,1491	$2,9 \times 10^{-4}$	-0,40	0,1481	$3,7 \times 10^{-4}$	0,24
Ácido benzóico, éster de fenil	0,2917	$7,5 \times 10^{-4}$	0,2926	$7,5 \times 10^{-4}$	-0,30	0,2908	$5,9 \times 10^{-4}$	0,31
2,2-dimetil-2-fenil-acetofenona	0,0145	$1,9 \times 10^{-5}$	0,0145	$1,9 \times 10^{-5}$	-0,21	0,0144	$1,5 \times 10^{-5}$	0,59
Butil-octil-ftalato	0,2050	$4,0 \times 10^{-4}$	0,2058	$4,0 \times 10^{-4}$	-0,40	0,2045	$5,1 \times 10^{-4}$	0,24
4,4'-metilenobis-fenol	0,0191	$4,9 \times 10^{-5}$	0,0192	$5,0 \times 10^{-5}$	-0,30	0,0191	$3,9 \times 10^{-5}$	0,31

Tabela 3.7 (Continuação) – Constituintes químicos obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa do controlo do EB2 e do EB2 tratado com G1 e com G2. R corresponde à percentagem de remoção dos constituintes químicos.

Constituinte	Controlo EB2 (µg/l)		EB2 tratado com G1 (µg/l)			EB2 tratado com G2 (µg/l)		
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	R (%)	Média	Desvio-padrão	R (%)
Benzil-quinolina	0,0142	1,8x10 ⁻⁵	0,0143	1,8x10 ⁻⁵	-0,21	0,0141	1,5x10 ⁻⁵	0,59
Docosano	0,0182	3,5x10 ⁻⁵	0,0183	3,5x10 ⁻⁵	-0,40	0,0182	4,6x10 ⁻⁵	0,24
Acetil tributil citrato	0,0740	1,9x10 ⁻⁴	0,0742	1,9x10 ⁻⁴	-0,30	0,0738	1,5x10 ⁻⁴	0,31
Triclosano	0,0307	4,0x10 ⁻⁵	0,0308	4,0x10 ⁻⁵	-0,21	0,0305	3,2x10 ⁻⁵	0,59
7-(dietilamino)-4-metil-2H-1-benzopiran-2-ona	0,1238	2,4x10 ⁻⁴	0,1243	2,4x10 ⁻⁴	-0,40	0,1235	3,1x10 ⁻⁴	0,24
Benzil-butiril-ftalato	0,0279	7,2x10 ⁻⁵	0,0280	7,2x10 ⁻⁵	-0,30	0,0278	5,7x10 ⁻⁵	0,31
Ácido fosfórico trifeníl	0,2271	2,9x10 ⁻⁴	0,2276	2,9x10 ⁻⁴	-0,21	0,2258	2,4x10 ⁻⁴	0,59
Diisooctil ftalato	0,2015	3,9x10 ⁻⁴	0,2023	3,9x10 ⁻⁴	-0,40	0,2010	5,1x10 ⁻⁴	0,24
Hexacosano	0,2447	6,3x10 ⁻⁴	0,2455	6,3x10 ⁻⁴	-0,30	0,2440	5,0x10 ⁻⁴	0,31
Triacontano	0,6056	7,8x10 ⁻⁴	0,6068	7,8x10 ⁻⁴	-0,21	0,6020	6,3x10 ⁻⁴	0,59
Dotriacontane	0,3712	7,2x10 ⁻⁴	0,3727	7,2x10 ⁻⁴	-0,40	0,3703	9,3x10 ⁻⁴	0,24

3.3.3. Toxicidade dos granulados de cortiça e do efluente tratado com os granulados de cortiça

Os ensaios de toxicidade demonstraram que os dois granulados de cortiça (G1 e G2) não acrescentaram toxicidade ao ASTM (Tabela 3.8 e 3.9), para *Daphnia magna*. Os ensaios de toxicidade foram considerados válidos porque a toxicidade nos controlos foi inferior a 10%, os valores de pH não apresentaram grande variação e os valores de oxigénio dissolvidos foram sempre superiores a 3 mg/l. Além disso verificou-se que surpreendentemente os granulados de cortiça eliminaram a toxicidade do EB2 (Tabela 3.10 e 3.11), que antes do tratamento apresentava um EC₅₀ (%) de 24,18 (IC95%: 22,19-26,41), apesar de se continuar a notar nas concentrações mais altas uma mobilidade mais reduzida o que sugere que o efluente apesar de não possuir toxicidade aguda para *D. magna* poderá certamente induzir efeitos subletais. Também Olivella *et al.* (2011b) investigaram o potencial da cortiça para libertar componentes tóxicos quando em

contacto com a água, um fator muito importante para avaliar a viabilidade da aplicação dos granulados de cortiça como adsorventes. Os investigadores usaram o ensaio com *Vibrio fischeri* e não detetaram nenhuma toxicidade na água que esteve sujeita às mesmas condições dos ensaios de adsorção (0,3 g de cortiça em 100ml de água destilada durante 1 hora de agitação) (Olivella *et al.*, 2011b). Contudo Anselmo *et al.* (2001) mostraram que a cortiça após contacto com água quente (águas residuais da cozedura da cortiça) apresenta toxicidade para *V. fischeri*, reportando valores de toxicidade variando entre 4,1 e 12,3 unidades tóxicas (UT) para esta espécie e entre 3,4 e 11,5 UT para o crustáceo *Daphnia magna*. Mendonça *et al.* (2004) sugerem os taninos como as substâncias responsáveis por esta toxicidade. A cozedura da cortiça funciona como uma primeira limpeza, confere humidade interna, proporciona um aumento do volume e o fechar dos poros e melhora a elasticidade e homogeneidade, permitindo a posterior utilização da cortiça como rolhas. A água residual resultante da cozedura da cortiça tem um valor de CQO de 7,4 g/l, uma CBO₅ de 1,3 g/l o que reflete baixa biodegradabilidade, um pH entre 4,8 e 5,1, concentrações de lignina e tanina de 1,3g/l e uma cor escura (Mendonça *et al.*, 2004). Estes estudos demonstram que o uso da cortiça sem qualquer tratamento como adsorvente para águas residuais não é aconselhável, uma vez que acrescentaria poluentes, cor e toxicidade à água residual.

Tabela 3.8 – Percentagem de imobilização em *Daphnia magna* provocada pelo meio ASTM que esteve em contacto com o Granulado 1, após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.

Conc. (%)	pH inicial	pH após 48h	% Imobilização (24 horas)	% Imobilização (48 horas)
0	7,88	7,84	0	0
51,3	7,18	7,88	0	0
56,4	7,15	7,83	0	10
62,1	7,07	7,78	0	0
68,3	7,05	7,68	0	5
75,1	6,98	7,64	0	0
82,6	6,92	7,63	0	0
90,9	6,92	7,64	0	0
100	6,92	7,85	0	5

Tabela 3.9 - Percentagem de imobilização em *Daphnia magna* provocada pelo meio ASTM que esteve em contacto com o Granulado 2, após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.

Conc. (%)	pH inicial	pH após 48h	% Imobilização (24 horas)	% Imobilização (48 horas)
0	7,82	7,14	0	0
51,3	7,78	7,64	0	0
56,4	7,73	7,60	0	0
62,1	7,68	7,38	0	0
68,3	7,64	7,63	0	5
75,1	7,63	7,31	0	15
82,6	7,61	7,58	0	0
90,9	7,59	7,70	0	0
100	7,56	7,69	0	0

Tabela 3.10 – Percentagem de imobilização em *Daphnia magna* provocada pelo EB2 tratado com Granulado 1 após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.

Conc. (%)	pH inicial	pH após 48h	% Imobilização (24 horas)	% Imobilização (48 horas)
0	7,6	7,95	0	0
8,8	8,03	7,56	0	0
13,2	7,52	7,5	0	0
19,8	7,47	7,48	0	0*
29,6	7,39	7,43	0*	0*
44,4	7,27	7,43	0*	0*
66,7	7,10	7,22	0*	0*
100	6,70	6,76	0*	0*

*Nota-se uma mobilidade mais reduzida comparativamente ao controlo e às concentrações mais baixas.

Tabela 3.11 - Percentagem de imobilização em *Daphnia magna* provocada pelo EB2 tratado com Granulado 2 após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.

Conc. (%)	pH inicial	pH após 48h	% Imobilização (24 horas)	% Imobilização (48 horas)
0	7,6	7,68	0	0
8,8	7,34	7,49	0	0
13,2	7,22	7,38	0	0
19,8	7,11	7,45	0	0*
29,6	6,96	7,42	0*	0*
44,4	6,75	7,25	0*	0*
66,7	6,50	7,09	0*	0*
100	5,96	6,60	5*	10*

*Nota-se uma mobilidade mais reduzida comparativamente ao controlo e às concentrações mais baixas.

3.3.4. Ensaios de adsorção com nanopartículas (NPs) de dióxido de titânio

Uma análise de variância bifactorial aos resultados para os parâmetros, cor e pH do efluente, após o tratamento com diferentes concentrações de dióxido de titânio e diferentes tempos de contacto, registou a ocorrência de diferenças significativas entre tratamentos (Tabela 3.12). A diferença entre tempos de exposição também foi significativa para os dois parâmetros. A interação entre a concentração de TiO_2 e os

tempos de exposição foi significativa para a cor, o que indica que para diferentes concentrações de NPs aplicadas, a cor do efluente após o ensaio, irá depender do tempo de exposição e *vice-versa*.

Tabela 3.12 – ANOVA bifatorial aos parâmetros estudados nos ensaios de adsorção com nanopartículas de dióxido de titânio para testar o efeito de diferentes concentrações de adsorvente e do tempo de exposição.

	F	p	g.l.
Cor			
Concentração TiO ₂	31,83	<0,001	1,23
Tempo de Exposição	9,86	<0,001	3,23
ConcentraçãoxExposição	8,52	<0,05	3,23
pH			
Concentração TiO ₂	0,2	=0,661	1,23
Tempo de Exposição	10,7	<0,001	3,23
ConcentraçãoxExposição	0,2	=0,895	3,23

Na Figura 3.24 está representada a variação de cor do efluente submetido às duas concentrações de nanopartículas de TiO₂ estudadas, nos diferentes tempos de exposição. O efluente apresentava uma coloração inicial de 560 unidades de cor e pela observação da Figura 3.24 verifica-se que a concentração mais baixa de TiO₂ (0,1g/l) diminui um pouco a coloração aos 30 e 60 minutos de contacto, no entanto com um maior tempo de contato a cor aumenta. Com uma concentração de 1g/l de TiO₂ não há qualquer remoção de cor, verificando-se um ligeiro aumento desta. Este aumento de cor pode resultar de reações de oxidação redução catalisadas pelo próprio dióxido de titânio. Com base na possibilidade destas reações terem ocorrido será útil no futuro aumentar o tempo de reação. Verificou-se com a análise de variância unifactorial que existem diferenças significativas na cor entre os vários tempos de exposição (0,1g/l: F=13,71; g.l.=3,11 e p<0,05; 1g/l: F=4,30; g.l.=3,11 e p<0,05). Na concentração mais baixa 0,1g/l o tempo de equilíbrio foi atingido aos 120 minutos e na concentração de 1g/l foi atingido aos 60 minutos.

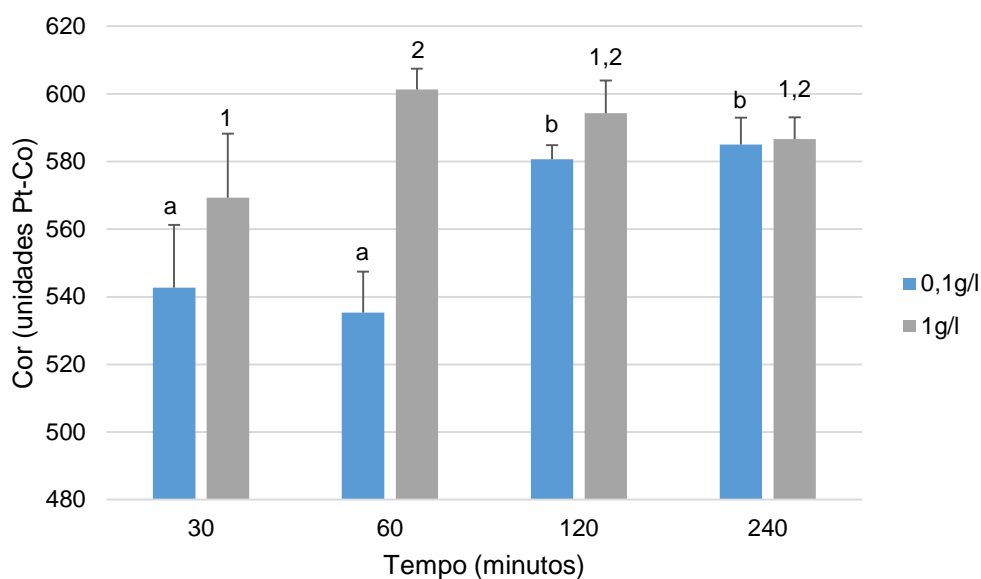


Figura 3.24 – Cor (em unidades Platina de Cobalto) dos ensaios de adsorção ao EB2 com 2 concentrações de nanopartículas de dióxido de titânio (0,1 e 1 g/l). As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre diferentes tempos de exposição para a concentração 0,1g/l, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas. Os números 1 e 2 representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre diferentes tempos de exposição para a concentração 1g/l, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

Quanto ao pH (Figura 3.25) verificou-se que após os 60 minutos o valor de pH desceu ligeiramente em relação ao pH inicial (3,33) e ao pH após 30 minutos de ensaio. Uma análise de variância unifactorial demonstrou que o pH variou significativamente entre tempos de exposição na concentração de 0,1g/l de TiO_2 ($F=19,1$; g.l.=3,11 e $p < 0,001$), ao contrário da concentração de 1 g/l em que não se verificaram diferenças significativas ($F=2,7$; g.l.=3,11 e $p=0,113$).

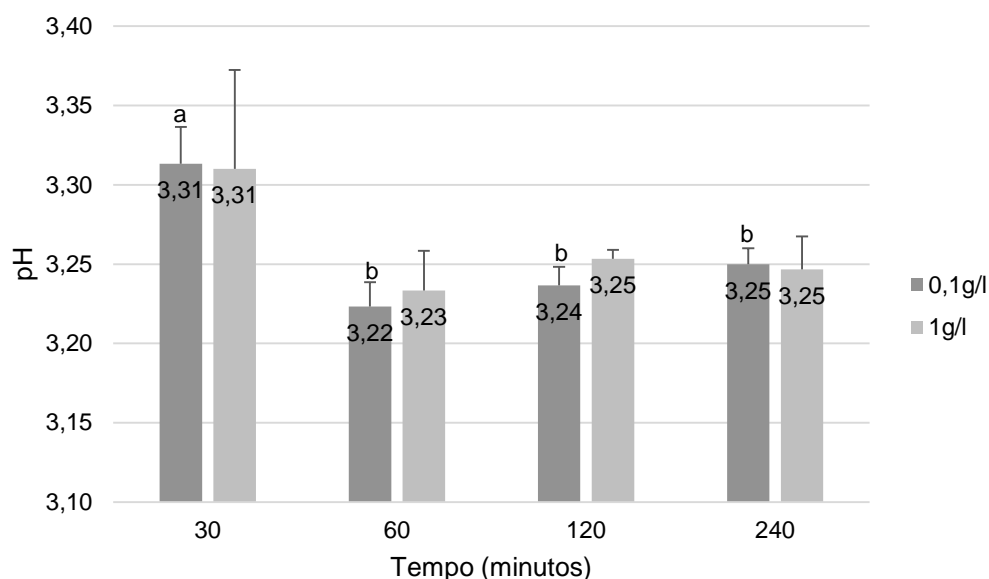


Figura 3.25 – Valor de pH dos ensaios de adsorção ao EB2 com 2 concentrações de nanopartículas de dióxido de titânio (0,1 e 1 g/l). As barras de erro representam o desvio padrão. As letras a e b representam as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre diferentes tempos de exposição para a concentração 0,1g/l, segundo o teste de Tukey HSD de comparações múltiplas.

Na Figura 3.26 estão representados os valores de CQO para as amostras de efluente que estiveram em contacto com as duas concentrações de adsorvente e para os diferentes tempos de exposição. Não foi possível fazer uma análise estatística dos dados devido a terem sido feitas leituras em amostras compostas, formadas pelas réplicas dos tratamentos. Ao contrário da cor uma maior concentração de adsorvente parece influenciar positivamente a redução da CQO. Como foi mencionado em cima, o que pode ter acontecido foi a oxidação de compostos presentes no efluente com a formação de compostos mais simples, mas que podem acrescentar mais cor.

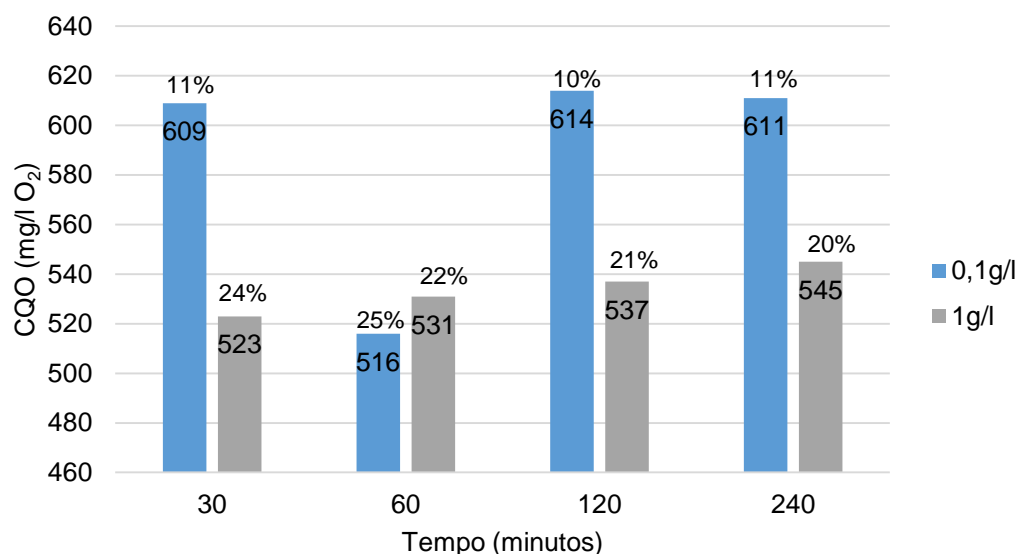


Figura 3.26 - Valor de CQO (mg/l O₂) dos ensaios de adsorção com EB2 e com duas concentrações de nanopartículas de dióxido de titânio (0,1 e 1 g/l). Os valores em percentagem correspondem a taxa de remoção da CQO em relação ao valor de CQO do EB2.

Para o tratamento de efluentes têxteis com nanopartículas de dióxido de titânio, Gebrati *et al.* (2010) usaram o método de degradação fotocatalítica e obtiveram uma remoção da CQO e de descoloração do efluente, de 53% e 89%, respetivamente, após 90 minutos de reação, a pH 4, com 1,5 g/l de TiO₂. Após o tratamento por oxidação fotocatalítica, os investigadores reportaram uma redução de toxicidade no ensaio de imobilização em *D. magna*, sendo que o Cl₅₀ aumentou de 3,8 para 22,8% (Gebrati *et al.*, 2010).

Até à presente data não existem estudos que refiram a capacidade de adsorção de nanopartículas de dióxido de titânio para o tratamento de efluentes têxteis. Barakat *et al.* (2011) avaliou a eficiência de remoção do corante, o “Procion yellow H-EXL”, com NPs de TiO₂ através do processo de adsorção e do processo de degradação fotocatalítica, na presença de iluminação UV. A percentagem de remoção do corante foi de 46,4 e de 100% por adsorção e por degradação fotocatalítica, respetivamente (Barakat *et al.*, 2011).

3.3.4.1. Toxicidade das nanopartículas de dióxido de titânio e do efluente tratado com estas nanopartículas

Pela observação da Tabela 3.13 verifica-se que as nanopartículas de dióxido de titânio não acrescentaram toxicidade ao meio ASTM. Isto já era esperado, pois as nanopartículas de dióxido de titânio têm sido reportadas como pouco tóxicas para *D. magna* e outros organismos aquáticos (Hunde-Rinke e Simon, 2006; Lovern e Klaper,

2006; Lovern *et al.*, 2007; Griffitt *et al.*, 2008, Strigul *et al.*, 2009). Em relação ao EB2 tratado com estas nanopartículas verificou-se que a partir da diluição de 24,4% de efluente tratado, às 24 horas, e da concentração de 15,3%, às 48 horas, apareceram organismos imobilizados (Tabela 3.14). O teste do qui-quadrado indicou que o modelo Probit ajusta-se aos dados, uma vez que o nível de significância é superior a 0,05 (24 horas: $p=0,780$ e 48 horas: $p=0,688$). O valor de EC_{50} do EB2 tratado com nanopartículas de dióxido de titânio para as 24 horas é de 57,5%, com um intervalo de confiança a 95% de 47,7-72,2 e para as 48 horas é de 45,7%, com um intervalo de confiança a 95% de 38,1-55,5. O tratamento com as nanopartículas de dióxido de titânio reduziu a toxicidade do efluente relativamente ao EB2 não tratado, que apresentou um EC_{50} (48 horas) de 24,2% e agora apresenta um EC_{50} (48 horas) de 45,7%. Também Gebrati *et al.* (2010) obtiveram redução da toxicidade usando nanopartículas de dióxido de titânio, no ensaio de imobilização em *Daphnia magna*, sendo que o CL_{50} aumentou de 3,8 para 22,8%. Contudo usaram o método de degradação fotocatalítica e não adsorção como no presente estudo e também conseguiram uma remoção da CQO e da cor do efluente, de 53% e 89%, respetivamente, após 90 minutos de reação, a pH 4, com 1,5 g/l de TiO_2 .

Tabela 3.13 – Percentagem de imobilização em *Daphnia magna* provocada pelo meio ASTM que esteve em contacto com o dióxido de titânio, após 24 e 48 horas de exposição, e respetivos valores de pH inicial e final.

Conc. (%)	pH inicial	pH após 48h	% Imobilização (24 horas)	% Imobilização (48 horas)
0	7,23	7,40	0	0
9,5	7,20	7,37	0	0
15,3	7,26	7,24	0	0
24,4	7,15	7,26	0	0
39,1	7,02	7,18	0	0
62,5	6,87	7,13	0	0
100	6,90	7,06	0	0

Tabela 3.14 - Percentagem de imobilização em *Daphnia magna* provocada pelo EB2 tratado com 1g/l de NPs de TiO₂, após 24 e 48 horas de exposição e, respetivos valores de pH inicial e final.

Conc. (%)	pH inicial	pH após 48h	% Imobilização (24 horas)	% Imobilização (48 horas)
0	7,75	8,16	0	0
9,5	7,24	7,50	0	0
15,3	7,10	7,46	0	5
24,4	6,84	7,45	10	10
39,1	6,23	7,27	25	40
62,5	4,93→6,44	7,02	65	80
100	3,34→6,46	6,97	75	85

3.4. Conclusão

Os efluentes têxteis usados nos ensaios de adsorção representam uma mistura complexa de corantes, surfatantes, compostos fenólicos, ftalatos, ácidos carboxílicos alifáticos, ácidos carboxílicos aromáticos, aminas, alcanos e álcoois alifáticos (de cadeia linear). Por ser uma mistura são inúmeros os parâmetros que podem covariar num processo de adsorção. Além disso não se pode avaliar a perigosidade nem a toxicidade deste efluente somente pela concentração dos compostos químicos presentes devido aos efeitos sinérgicos, aditivos ou antagonísticos que podem ocorrer entre estes compostos.

Os ensaios preliminares de adsorção com granulados de cortiça demonstraram que estes acrescentam cor ao efluente e que esta aumenta com o tempo de contacto com a cortiça.

Contudo, nos controlos com água destilada foi possível verificar que os granulados de cortiça apesar de acrescentarem compostos com cor, esse acréscimo não aumenta com o tempo de contato. O granulado 1 (G1) acrescentou mais cor ao efluente ou à água destilada que o granulado 2 (G2) certamente por possuir uma maior área superficial de contato, pois é o granulado de menor granulometria. A condutividade do efluente não sofreu alterações significativas após a adsorção com os granulados, contudo aumentou significativamente às 72 horas de contato. O valor de CQO e o valor de pH foram os únicos parâmetros que verificaram melhorias, sendo que às 48 horas de contacto o efluente tratado com o G2 sofreu uma redução da CQO de 12,24%. A partir destes ensaios preliminares chegou-se à conclusão que um fator que poderia influenciar significativamente a eficácia de remoção da cor, da condutividade e da CQO era a ausência de agitação, uma vez que a cortiça é um material pouco denso e hidrofóbico, acumulando-se à superfície e não se misturando com o efluente ou com a água destilada. Além disso também se efetuou um pré-tratamento adicional, que consistiu numa lavagem dos granulados 1 e 2. De fato verificou-se que a agitação aumentou o contacto da cortiça com o efluente mas não influenciou a remoção da cor, nem da condutividade nem mesmo na redução da CQO. A lavagem dos granulados permitiu uma ligeira redução na cor para o granulado 1, contudo não surtiu efeito na condutividade nem na capacidade de redução da CQO. Não obstante estes resultados pouco satisfatórios em termos de parâmetros químicos do efluente, estes dois granulados de cortiça eliminaram a toxicidade do efluente têxtil EB2, que antes do tratamento apresentava um EC_{50} (%) de 24,18 (22,19-26,41) para o parâmetro de imobilização em *Daphnia magna*, indicativo de uma elevada toxicidade aguda.

Os ensaios com as nanopartículas de dióxido de titânio mostraram que a concentração de adsorvente mais baixa (0,1g/l) mostrou uma pequena remoção de cor aos 30 e 60 minutos de contacto, enquanto que para a outra concentração testada (1g/l) e para os restantes tempos de contato não se verificou remoção da cor. Ao contrário a remoção da CQO foi mais eficaz para a concentração de adsorvente de 1 g/l, contudo o valor mais alto de remoção foi de apenas 25%.

O tratamento com as nanopartículas de dióxido de titânio reduziu a toxicidade do efluente relativamente ao EB2 não tratado, que apresentou um EC_{50} (48 horas) de 24,2% e agora apresenta um EC_{50} (48 horas) de 45,7%.

3.5. Referências Bibliográficas

- Anselmo, A. M., Gil, E., and Mendonça, E. (2001). "Águas residuais da cozedura da cortiça – caracterização e perspectiva ambiental". *Água e Ambiente* 35(10), Separata A&A Ciência (1), 1-4.
- Babel, T., Kurniawan, T.A., (2003). Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review. *Journal of Hazardous Materials* B97, 219–243
- Barakat, M. A. (2011). Adsorption and photodegradation of Procion yellow H-EXL dye in textile wastewater over TiO₂ suspension. *Journal of Hydro-environment Research* 5(2), 137–142.
- Castillo, M., e Barceló, D. (2001). Characterisation of organic pollutants in textile wastewaters and landfill leachate by using toxicity-based fractionation methods followed by liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta* 426(2), 253–264.
- CE, Comissão Europeia (2008). Diretiva 2008/105/CE, de 16 de Dezembro de 2008 relativa a normas de qualidade ambiental no domínio da política da água, que altera e subsequentemente revoga as Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE e 86/280/CEE do Conselho, e que altera a Directiva 2000/60/CE. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias* L348, 84-97.
- Domingues, V. (2005). Utilização de um produto natural (cortiça) como adsorvente de pesticidas piretróides em águas. *Dissertação apresentada para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Química na Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto*, Porto, 1-198.
- Domingues, V., Alves, A., Cabral, M., e Delerue-Matos, C. (2005). Sorption behaviour of bifenthrin on cork. *Journal of Chromatography A* 1069(1), 127–132.
- Engates, K. E., e Shipley, H. J. (2011). Adsorption of Pb, Cd, Cu, Zn, and Ni to titanium dioxide nanoparticles: effect of particle size, solid concentration, and exhaustion. *Environmental science and pollution research international* 18(3), 386–95.
- Garg, V.K., Amita, M., Kumar, R., Gupta, R., (2004). Basic dye (methylene blue from simulated wastewater by adsorption using Indian Rosewood sawdust: a timber industry waste. *Dyes and Pigments* 63, 243-250
- Gebrati, L., Idrissi, L. L., Mountassir, Y., e Nejmeddine, A. (2010). Detoxification of textile industry effluents by photocatalytic treatment. *Environmental technology*, 31(6), 625–32.
- Griffitt, R.J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J.C., Barber, D.S. (2008). Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 1972–1978
- Hund-Rinke, K., Simon. M. (2006). Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles (TiO₂) on algae and daphnids. *Environmental Science and Pollution Research* 13, 225–232.

- Hung, W.-C., Fu, S.-H., Tseng, J., Chu, H., e Ko, T.-H. (2007). Study on photocatalytic degradation of gaseous dichloromethane using pure and iron ion-doped TiO₂ prepared by the sol-gel method. *Chemosphere*, 66(11), 2142–51.
- Lovern, S.B., Klaper, R. (2006). *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C) nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, 1132–1137.
- Lovern, S.B., Strickler, J.R., Klaper, R. (2007). Behavioral and physiological changes in *Daphnia magna* when exposed to nanoparticle suspensions (titanium dioxide, nano-C, and CH_xCH_x). *Environmental Science and Technology* 41, 4465–4470
- MA, Ministério do Ambiente (1998). Decreto-Lei nº 236/98, de 1 de Agosto. *Diário da República*, Nº 176, 3676-3722.
- Mazumder, D. (2011). Process evaluation and treatability study of wastewater in a textile dyeing industry. *International Journal of Energy and Environment* 2(6), 1053-1066.
- Mendonça, E., Pereira, P., Martins, A., e Anselmo, A. M. (2004). Fungal Biodegradation and Detoxification of Cork Boiling Wastewaters. *Engineering in Life Sciences* 4(2), 144–149.
- Neto, C. P., Rocha, J., Gil, A., Cordeiro, N., Esculcas, A P., Rocha, S., Correia, A J. (1995). ¹³C Solid-state nuclear magnetic resonance and Fourier transform infrared studies of the thermal decomposition of cork. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* 4(3), 143–51.
- Olivella, M. À., Jové, P., & Oliveras, A. (2011a). The use of cork waste as a biosorbent for persistent organic pollutants-Study of adsorption/desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering*, 46(8), 824–32.
- Olivella, M.A., Jové, P., Sen, A., Pereira, H., Villaescusa, I. e Fiol, N. (2011b). Sorption performance of *Quercus cerris* cork with polycyclic aromatic hydrocarbons and toxicity testing. *Bioresources* 6, 3363–3375.
- Pérez, M., Torrades, F., Domènech, X., e Peral, J. (2002). Fenton and photo-Fenton oxidation of textile effluents. *Water research* 36(11), 2703–10.
- Pintor, A.M.A., Ferreira, C.I.A., Pereira, J.C., Correia, P., Silva, S.P., Vilar, V.J.P., Botelho, C.M.S., Boaventura, R.A.R. (2012). Use of cork powder and granules for the adsorption of pollutants: a review. *Water Research* 46(10), 3152–66.
- Santos, A. B., Cervantes, F. J., e Van Lier, J. B. (2007). Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresource technology*, 98(12), 2369–85.
- Strigula, N., Vaccaria, L., Galduna, C., Waznea, M., Liua, X., Christodoulatos, C., Jasinkiewicz, K. (2008). Acute toxicity of boron, titanium dioxide, and aluminum nanoparticles to *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. *Desalination* 248, 771-782.

- Vijayaraghavan, K., Yun, Y. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances* 26, 266-291.
- Volesky, B. (2007). Biosorption and me. *Water Research* 41, 4017-4029.
- Villaescusa, I., Fiol, N., Poch, J., Bianchi, A., Bazzicalupi, C. (2011). Mechanism of paracetamol removal by vegetable wastes: the contribution of [pi]-[pi] interactions, hydrogen bonding and hydrophobic effect. *Desalination* 270 (1-3), 135-142.

ANEXOS

Anexo I – Ensaio de inibição do crescimento em *Pseudokirchneriella subcapitata*

Tabela I.1 – Resultados da análise ANOVA unifatorial através do SPSS para o ensaio de inibição do crescimento em *P.subcapitata*.

	F	Nível de significância	Graus de liberdade
EB2	133,560	0,000	8
ET1	135,836	0,000	8
ET2	156,003	0,000	8

Tabela I.2 – Teste de Dunnett (comparações múltiplas) para o ensaio de inibição do crescimento em *P.subcapitata*.

	Concentração J	Concentração I	Diferença entre médias (I-J)	Erro padrão	Nível de Significância
EB2	,00	51,32	-,26384*	,01820	,000
		56,45	-,10375*	,01820	,000
		62,09	-,16155*	,01820	,000
		68,30	-,30828*	,01820	,000
		75,13	-,27760*	,01820	,000
		82,64	-,27716*	,01820	,000
		90,91	-,44916*	,01820	,000
		100,00	-,42748*	,01820	,000
ET1	,00	66,51	,17359*	,00881	,000
		70,50	,16694*	,00881	,000
		74,73	,08275*	,00881	,000
		79,21	,03676*	,00881	,003
		83,96	,06618*	,00881	,000
		89,00	,02388	,00881	,084
		94,34	-,01191	,00881	,742
		100,00	-,09306*	,00881	,000
ET2	,00	66,51	-,01645	,00968	,504
		70,50	-,01883	,00968	,352
		74,73	-,07685*	,00968	,000
		79,21	-,12137*	,00968	,000
		83,96	-,11609*	,00968	,000
		89,00	-,15594*	,00968	,000
		94,34	-,20391*	,00968	,000
		100,00	-,27404*	,00968	,000

* Médias que apresentam diferença significativa em relação ao controlo.

Tabela I.3 – Teste de Tukey HSD (subconjuntos homogêneos) para o ensaio de inibição do crescimento em *P.subcapitata*.

	Concentração	N	P<0,05						
			1	2	3	4	5	6	7
EB2	90,91	3	1,1252						
	100,00	3	1,1469						
	68,30	3		1,2661					
	75,13	3		1,2968					
	82,64	3		1,2972					
	51,32	3		1,3106					
	62,09	3			1,4128				
	56,45	3			1,4706				
	,00	8				1,5744			
	Sig.		,979	,497	,191	1,000			
ET1	100,00	3	1,2581						
	94,34	3		1,3392					
	,00	8		1,3512	1,3512				
	89,00	3			1,3750	1,3750			
	79,21	3				1,3879	1,3879		
	83,96	3					1,4173	1,4173	
	74,73	3						1,4339	
	70,50	3							1,5181
	66,51	3							1,5248
	Sig.		1,000	,957	,366	,934	,149	,787	,999
ET2	100,00	3	1,0207						
	94,34	3		1,0908					
	89,00	3			1,1388				
	79,21	3			1,1733	1,1733			
	83,96	3				1,1786			
	74,73	3					1,2179		
	70,50	3						1,2759	
	66,51	3						1,2783	
	,00	8						1,2947	
	Sig.		1,000	1,000	,101	1,000	1,000	,756	

Anexo II – Ensaio de Toxicidade em *Lemna minor*

Tabela II.1 – Ensaio preliminar de toxicidade em *Lemna minor* para o Efluente Bruto 2 sem ajuste de pH.







Concentração (%)	Visualização fotográfica de uma réplica do ensaio	pH inicial	pH final	Nº de frondes inicial	Nº de frondes final
Controlo		5,88	6,79	12	57
		5,88	6,40	12	73
		5,88	6,45	12	73
26%		3,64	4,98	12	12
		3,64	4,77	12	12
		3,64	4,42	12	15
36,4%		3,47	4,05	12	12
		3,47	4,01	12	12
		3,47	3,94	12	12
51%		3,34	3,67	12	12
		3,34	3,70	12	12
		3,34	3,87	12	13
71,4%		3,24	3,48	12	12
		3,24	3,49	12	12
		3,24	3,49	12	12
100%		3,07	3,29	12	12
		3,07	3,30	12	12
		3,07	3,23	12	12

Tabela II.2 – Valores de pH, do número de frondes e da biomassa seca no início e no fim (após 7 dias) do ensaio de toxicidade do Efluente Bruto 2 em *Lemna minor*. A seta indica que foi feito um ajustamento de pH com NaCl a 1Molar.

Conc. (%)	pH inicial	pH final	Nº de frondes inicial	Nº de frondes final	Biomassa seca inicial (mg)	Biomassa seca final (mg)
Controlo	6,07	6,75	12	167	0,47	10,1
	6,07	6,73	12	177	0,47	12,5
	5,94	6,67	12	169	0,47	11,1
26,0%	3,86→6,70	6,84	12	124	0,47	8,7
	3,86→6,70	6,85	12	141	0,47	10
	3,86→6,70	6,88	12	163	0,47	12,3
36,4%	3,72→6,28	6,52	12	160	0,47	11,4
	3,72→6,28	6,60	12	158	0,47	12,1
	3,72→6,28	6,43	12	125	0,47	9,6
51,0%	3,62→6,34	6,34	12	116	0,47	7,8
	3,62→6,34	6,44	12	154	0,47	9,8
	3,62→6,34	6,38	12	153	0,47	9,5
71,4%	3,48→6,63	6,36	12	95	0,47	6
	3,48→6,63	6,35	12	108	0,47	6
	3,48→6,63	6,38	12	106	0,47	6,2
100%	3,28→6,15	6,27	12	32	0,47	3,6
	3,28→6,15	6,26	12	40	0,47	5,2
	3,28→6,15	6,24	12	38	0,47	3,9

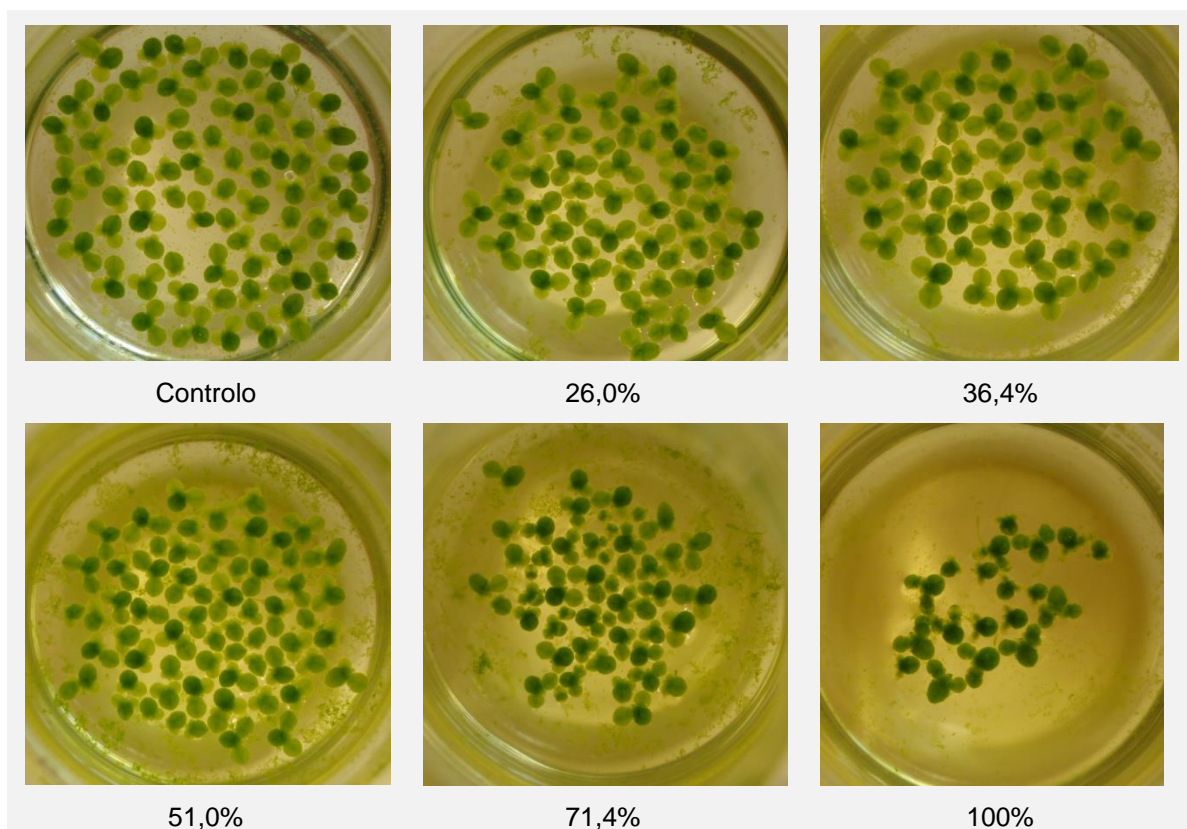


Figura II.1 – Visualização fotográfica de uma réplica de cada concentração testada no ensaio de toxicidade do Efluente Bruto 2 em *Lemna minor*.

Tabela II.3 – Valores da taxa média de crescimento específico e de percentagem de inibição de crescimento em *Lemna minor* para o Efluente Tratado 1.

Concentração (%)	Nº de frondes inicial	Nº de frondes final	Taxa média de crescimento específico	% Inibição de crescimento
Controlo	12	131	0,327	0
	12	102		
	12	124		
26%	12	109	0,340	-3,94
	12	87		
	12	229		
36,4%	12	110	0,345	-5,62
	12	196		
	12	113		
51%	12	137	0,354	-8,43
	12	153		
	12	141		
71,4%	12	94	0,311	4,91
	12	121		
	12	104		
100%	12	13	0,004	98,83
	12	12		
	12	12		

Tabela II.4 – Valores de pH, do número de frondes e da biomassa seca no início e no fim (após 7 dias) do ensaio de toxicidade do Efluente Tratado 2 em *Lemna minor*.

Conc. (%)	pH inicial	pH final	Nº de frondes inicial	Nº de frondes final	Biomassa seca inicial (mg)	Biomassa seca final (mg)
Controlo	5,48	6,84	12	118	0,63	11,4
	5,57	6,86	12	131	0,63	12
	5,51	6,58	12	113	0,63	11,2
62,1%	6,70	9,36	12	148	0,63	11,6
	6,70	9,35	12	131	0,63	11,4
	6,70	9,36	12	123	0,63	11,1
68,3%	6,64	9,36	12	116	0,63	9,8
	6,64	9,41	12	119	0,63	10,3
	6,64	9,35	12	111	0,63	9,5
75,1%	6,55	9,66	12	89	0,63	7,8
	6,55	9,49	12	101	0,63	8,3
	6,55	9,44	12	86	0,63	7,7
82,6%	6,45	9,47	12	37	0,63	6,2
	6,45	9,81	12	36	0,63	5,7
	6,45	9,41	12	39	0,63	5,6
90,9%	6,90	9,53	12	20	0,63	4,2
	6,90	9,48	12	23	0,63	5
	6,90	9,38	12	17	0,63	4,1
100	6,72	9,20	12	16	0,63	3,8
	6,72	9,26	12	14	0,63	3,4
	6,72	9,29	12	17	0,63	4,1

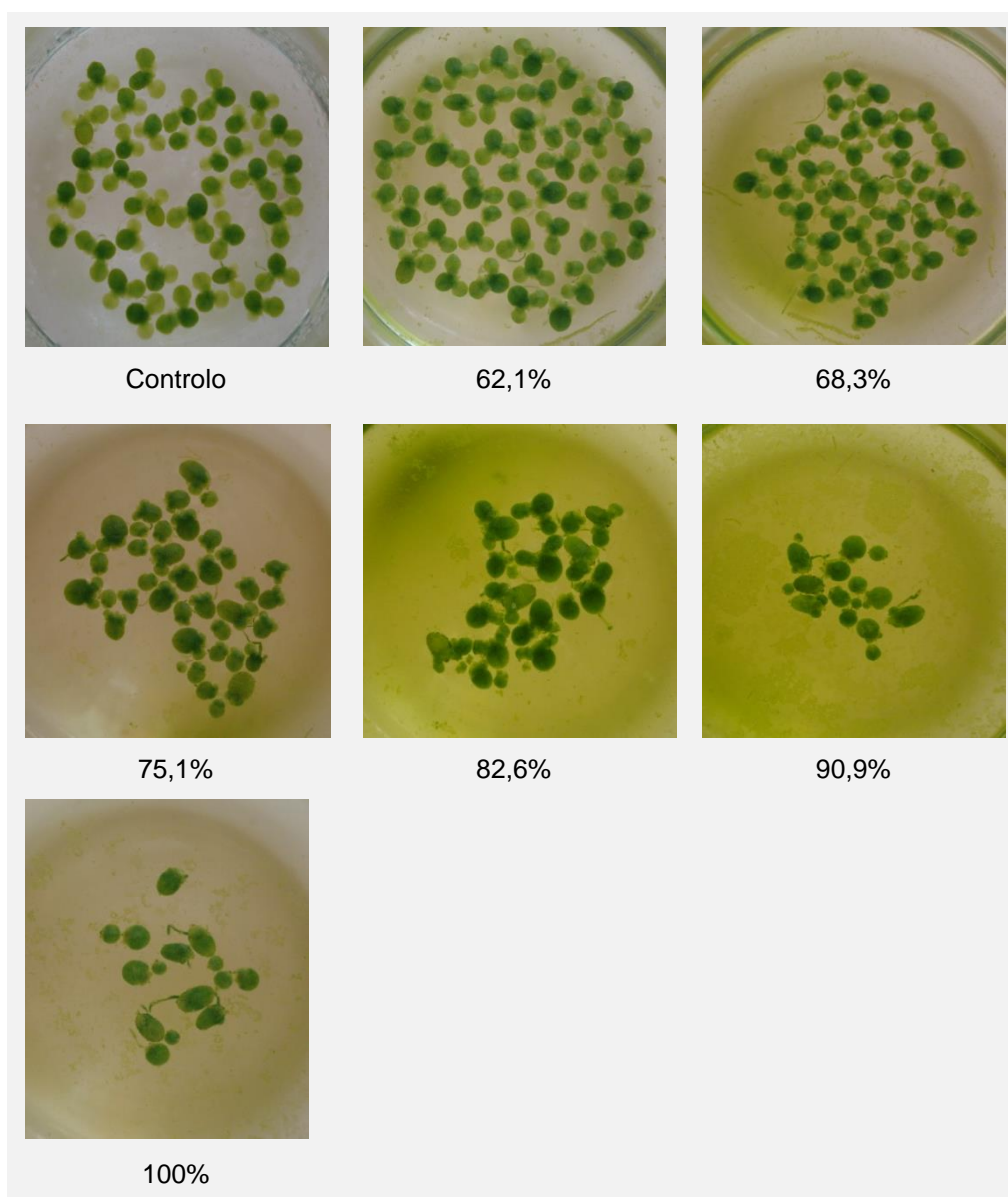


Figura II.2 – Visualização fotográfica de uma réplica de cada concentração testada no ensaio de toxicidade do Efluente Tratado 2 em *Lemna minor*.

Tabela II.5 – Resultados da análise ANOVA unifatorial através do SPSS para o ensaio de toxicidade em L.minor.

		Taxa de crescimento específico de frondes	Taxa de desenvolvimento de biomassa seca
EB2	F	69,756	25,815
	Nível de significância	0,000	0,000
	Graus de liberdade	5	5
ET2	F	303,252	152,422
	Nível de significância	0,000	0,000
	Graus de liberdade	6	6

Tabela II.6 – Teste de Dunnett (comparações múltiplas) para o ensaio de toxicidade em *L.minor*.

	Concentração J	Concentração I	Diferença entre médias (I-J)	Erro padrão	Nível de Significância
EB2 (Taxa de crescimento específico de frondes)	,00	26,00	-,02673	,01377	,247
		36,40	-,02181	,01377	,411
		51,00	-,02872	,01377	,197
		71,40	-,07260*	,01377	,001
		100,00	-,22056*	,01377	,000
EB2 (Taxa de desenvolvimento de biomassa seca)	,00	26,00	-,01284	,01574	,877
		36,40	-,00270	,01574	1,000
		51,00	-,03131	,01574	,230
		71,40	-,08748*	,01574	,001
		100,00	-,14070*	,01574	,000
ET2 (Taxa de crescimento específico de frondes)	,00	62,10	,01482	,01057	,558
		68,30	-,00624	,01057	,977
		75,10	-,03882*	,01057	,012
		82,60	-,16739*	,01057	,000
		90,90	-,25756*	,01057	,000
ET2 (Taxa de desenvolvimento de biomassa seca)	,00	100,00	-,29183*	,01057	,000
		62,10	-,00204	,00746	1,000
		68,30	-,02232*	,00746	,043
		75,10	-,05347*	,00746	,000
		82,60	-,09746*	,00746	,000
		90,90	-,13709*	,00746	,000
		100,00	-,16022*	,00746	,000

* Médias que apresentam diferença significativa em relação ao controlo.

Tabela II.7 – Teste de Tukey HSD (subconjuntos homogêneos) para o ensaio de toxicidade em L.minor.

	Concentração	N	P<0,05			
			1	2	3	4
EB2 (Taxa de crescimento específico de frondes)	100,00	3	,1589			
	71,40	3		,3069		
	51,00	3		,3508	,3508	
	26,00	3		,3528	,3528	
	36,40	3			,3577	
	,00	3			,3795	
	Sig.		1,000	,052	,355	
EB2 (Inibição do desenvolvimento de biomassa seca)	100,00	3	,3132			
	71,40	3		,3664		
	51,00	3			,4226	
	26,00	3			,4410	
	36,40	3			,4512	
	,00	3			,4539	
	Sig.		1,000	1,000	,401	
ET2 (Taxa de crescimento específico de frondes)	100,00	3	,0376			
	90,90	3	,0719			
	82,60	3		,1621		
	75,10	3			,2906	
	68,30	3			,3232	,3232
	62,10	3				,3295
	,00	3				,3443
	Sig.		,068	1,000	,089	,459
ET2 (Inibição do desenvolvimento de biomassa seca)	100,00	3	,2543			
	90,90	3	,2774			
	82,60	3		,3171		
	75,10	3			,3610	
	68,30	3				,3922
	62,10	3				,4125
	,00	3				,4145
	Sig.		,086	1,000	1,000	,104

Anexo III – Ensaio de imobilização em *Daphnia magna*

Tabela III.1 – Valores de pH e de Oxigénio Dissolvido (OD) no início e no final (após 48 horas) do ensaio agudo de imobilização em *Daphnia magna* para o Efluente Têxtil Bruto 2.

Conc. (%)	pH inicial	pH após 48h	OD inicial (mg/l O ₂)	OD após 48h (mg/l O ₂)
0	7,8	8,41	8,63	8,76
8,8	7,35	7,6	8,38	6,24
13,2	7,12	7,55	8,48	6,85
19,8	6,92	7,47	8,33	6,84
29,6	6,66	7,28	8,28	6,45
44,4	6,23	6,97	8,23	5,43
66,7	4,92 → 6,53*	6,98	7,77	4,70
100	3,34 → 6,35*	6,68	7,64	4,02

(*) Ajuste do pH, com NaOH 1M, para um pH entre 6 e 7.

Tabela III.2 – Percentagem de imobilização em *Daphnia magna* provocada pelo Efluente Têxtil Bruto 2 após 24 e 48 horas de exposição.

Concentração (%)	Total Organismos	24 horas		48 horas	
		Nº imobilizados	% Imobilização	Nº imobilizados	% Imobilização
0	20	0	0	0	0
8,8	20	0	0	0	0
13,2	20	0	0	0	0
19,8	20	2	10	3	15
29,6	20	7	35	19	95
44,4	20	15	75	20	100
66,7	20	20	100	20	100
100	20	20	100	20	100

Tabela III.3 – Resultados da análise ANOVA unifatorial através do SPSS para o ensaio agudo de imobilização em *Daphnia magna*.

EB2	F	Nível de significância	Graus de liberdade
24horas	129,114	0,000	7
48horas	178,653	0,000	7

Tabela III.4 – Teste de Dunnett (comparações múltiplas) para o ensaio agudo de imobilização em *Daphnia magna*.

	Concentração J	Concentração I	Diferença entre médias (I-J)	Erro padrão	Nível de Significância
EB2 (24 horas)	,00	8,80	,00000	,27951	1,000
		13,20	,00000	,27951	1,000
		19,80	,50000	,27951	,346
		29,60	2,00000*	,27951	,000
		44,40	3,75000*	,27951	,000
		66,70	5,00000*	,27951	,000
		100,00	5,00000*	,27951	,000
EB2 (48 horas)	,00	8,80	,00000	,27003	1,000
		13,20	,00000	,27003	1,000
		19,80	,75000	,27003	,054
		29,60	4,75000*	,27003	,000
		44,40	5,00000*	,27003	,000
		66,70	5,00000*	,27003	,000
		100,00	5,00000*	,27003	,000

* Médias que apresentam diferença significativa em relação ao controlo.

Tabela III.5 – Teste de Tukey HSD (subconjuntos homogêneos) para o ensaio agudo de imobilização em *Daphnia magna*.

	Concentração	N	P<0,05			
			1	2	3	4
EB2 (24 horas)	,00	4	,0000			
	8,80	4	,0000			
	13,20	4	,0000			
	19,80	4	,5000			
	29,60	4		2,0000		
	44,40	4			3,7500	
	66,70	4				5,0000
	100,00	4				5,0000
	Sig.		,633	1,000	1,000	1,000
EB2 (48 horas)	,00	4	,0000			
	8,80	4	,0000			
	13,20	4	,0000			
	19,80	4	,7500			
	29,60	4		4,7500		
	44,40	4		5,0000		
	66,70	4		5,0000		
	100,00	4		5,0000		
	Sig.		,148	,980		

Tabela III.6 – Valores do teste de Qui-quadrado para verificar a adequação ao modelo Probit dos resultados para o EB2.

Tempo de exposição (horas)	Qui-quadrado	Graus de liberdade	Nível de significância
24	1,304	6	0,971
48	0,514	6	0,998

Tabela III.7 – Valores de pH e de Oxigénio Dissolvido (OD) no início e no final (após 48 horas) do ensaio agudo de imobilização em *Daphnia magna* para o Efluente Têxtil Tratado 1.

Conc. (%)	pH inicial	pH após 48h	OD inicial (mg/l O ₂)	OD após 48h (mg/l O ₂)
0	7,83	8,35	7,60	7,02
8,8	7,80	8,12	7,58	7,04
13,2	7,94	7,99	7,46	6,61
19,8	7,86	8,03	7,37	6,49
29,6	7,88	7,92	7,46	6,84
44,4	7,86	7,94	7,45	6,75
66,7	7,74	7,97	7,74	6,83
100	7,67	7,98	7,96	6,66

Tabela III.8 – Percentagem de imobilização em *Daphnia magna* provocada pelo Efluente Têxtil Tratado 1 após 24 e 48 horas de exposição.

Concentração (%)	Total Organismos	24 horas		48 horas	
		Nº imobilizados	% Imobilização	Nº imobilizados	% Imobilização
0	20	0	0	0	0
8,8	20	0	0	0	0
13,2	20	0	0	0	0
19,8	20	0	0	0	0
29,6	20	0	0	0	0
44,4	20	0	0	0	0
66,7	20	0	0	0	0
100	20	1	5	1	5

Anexo IV – Ensaio de inibição alimentar em *Daphnia magna*

Tabela IV.1 – Resultados da análise ANOVA unifatorial através do SPSS para o ensaio de inibição alimentar em *D.magna*.

	F	Nível de significância	Graus de liberdade
EB2	105,652	0,000	8
ET1	48,054	0,000	5

Tabela IV.2 – Teste de Dunnett (comparações múltiplas) para o ensaio de inibição alimentar em *D.magna*.

	Concentração J	Concentração I	Diferença entre médias (I-J)	Erro padrão	Nível de Significância
EB2	,00	5,82	-82,55573	373,28013	1,000
		7,56	-412,77865	373,28013	,822
		9,83	-2889,45052*	373,28013	,000
		12,78	-3137,11771*	373,28013	,000
		16,61	-4623,12083*	373,28013	,000
		21,60	-5531,23385*	373,28013	,000
		28,08	-6604,45833*	373,28013	,000
ET1	,00	36,50	-6687,01406*	373,28013	,000
		48,23	-577,89010	335,26893	,324
		57,87	-1230,08036*	335,26893	,007
		69,44	-1997,84865*	335,26893	,000
		83,33	-3874,61556*	335,26893	,000
		100,00	-3847,09698*	335,26893	,000

* Médias que apresentam diferença significativa em relação ao controlo.

Tabela IV.3 – Teste de Tukey HSD (subconjuntos homogêneos) para o ensaio de inibição alimentar em *D.magna*.

	Concentração	N	P<0,05			
			1	2	3	4
ET1	83,33	4	440,2972			
	100,00	4	467,8158			
	69,44	4		2317,0641		
	57,87	4		3084,8324	3084,8324	
	48,23	4			3737,0227	3737,0227
	,00	4				4314,9128
	Sig.		1,000	,248	,409	,535
EB2	36,50	4	3082,0806			
	28,08	4	3164,6363			
	21,60	4	4237,8608	4237,8608		
	16,61	4		5145,9738		
	12,78	4			6631,9769	
	9,83	4			6879,6441	
	7,56	4				9356,3160
	5,82	4				9686,5389
	,00	4				9769,0946
	Sig.		,089	,307	,999	,968